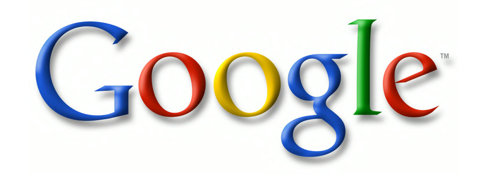


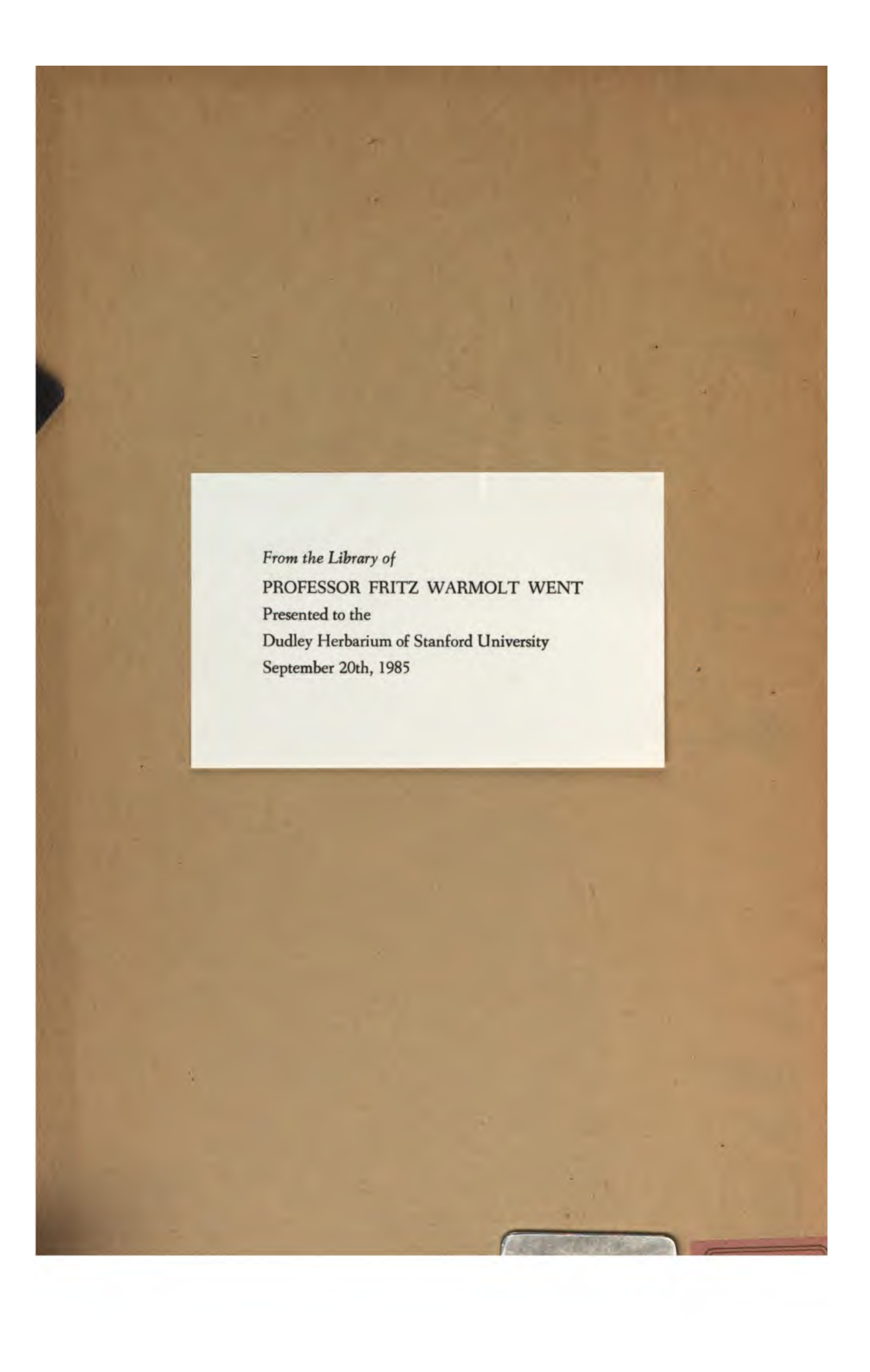
W. PFEFFER,
MITGLIED DER KÖNIGL. SÄCHS. GESELLSCHAFT DER WISSENSCHAFTEN.

BEITRÄGE

ZUR

KENNTNISS DER OXYDATIONSVORGÄNGE

IN LEBENDEN ZELLEN.


From the Library of
PROFESSOR FRITZ WARMOLT WENT
Presented to the
Dudley Herbarium of Stanford University
September 20th, 1985

BEITRÄGE

ZUR

KENNTNISS DER OXYDATIONSVORGÄNGE IN LEBENDEN ZELLEN

VON

DR. W. PFEFFER,
MITGLIED DER KÖNIGL. SÄCHS. GESELLSCHAFT DER WISSENSCHAFTEN.

Des XV. Bandes der Abhandlungen der mathematisch-physischen Classe der Königl. Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften

Nº V.

LEIPZIG
BEI S. HIRZEL.
1889.

Das Manuscript eingeliefert am 18. Februar 1889.
Der Druck beendet am 24. April 1889.

Inhaltsübersicht.

BEITRÄGE

ZUR

KENNTNISS DER OXYDATIONSVORGÄNGE

IN LEBENDEN ZELLEN

VON

DR. W. PFEFFER.

I. Einleitung und Methodisches.

Das Vorkommen von activirtem Sauerstoff im Organismus wurde zwar oft in Erwägung gezogen, doch ist nie direct entschieden, ob in lebenden und lebensthätigen Zellen eine Production von activirtem Sauerstoff stattfindet. Auf Grund der mitzutheilenden Untersuchungen ist aber in streng empirischer Weise der Nachweis zu führen, dass in lebensthätigen Zellen, und zwar sowohl bei höheren Pflanzen, als bei Schimmelpilzen, activirter Sauerstoff weder im Protoplasma, noch im Zellsaft zu einer nachweislichen Entstehung kommt. Diese Schlüsse ergeben sich mit vollster Sicherheit aus dem Studium der Wirkung von Wasserstoffsuperoxyd in lebenden Zellen, ein Studium, das ich in der Absicht unternahm, um nach Reactionen auf Wasserstoffsuperoxyd in der lebenden Zelle zu suchen. Unterbleiben aber in der Zelle Oxydationen, welche Wasserstoffsuperoxyd erzielt, so sind natürlich auch alle noch stärker wirkende Oxydationsmittel, so insbesondere Ozon und der noch wirksamere atomistische, aber natürlich nur im Entstehungszustand in Betracht kommende Sauerstoff ausgeschlossen[1]). Ist diesen beiden Sauerstoffformen gegenüber das Wasserstoffdioxyd auch ein relativ schwaches Oxydationsmittel[2]), so glaube ich es doch mit Ozon und atomistischem Sauerstoff als activer oder activirter Sauerstoff zusammenfassen zu sollen, dem TRAUBE das Wasserstoffdioxyd nicht zugesellen möchte. Ich halte indess eine solche Vereinigung für zweckmässig, da es für unsere Zwecke nur darauf ankommt, dem molekularen, neutralen oder passiven Sauerstoff die

1) Vgl. BAUMANN, Zur Kenntniss des activen Sauerstoffs. Ztschr. f. physiol. Chemie 1881, Bd. 5, p. 244.

2) Bericht d. chem. Gesellschaft 1882, Bd. 15, p. 675.

stärker wirkenden Formen oder Verbindungen des Sauerstoffs gegenüber zu stellen und es aus den Oxydationswirkungen zunächst gewöhnlich gar nicht zu ersehen sein wird, ob sie durch Wasserstoffdioxyd, Ozon, nascirenden Sauerstoff oder auch durch irgend eine andere energisch wirkende Sauerstoffverbindung erzielt wurden. Im Vergleich zum passiven Sauerstoff ist aber bekanntlich Wasserstoffdioxyd schon ein sehr starkes Oxydationsmittel, zudem kann es durch Vermittelung gewisser Körper zu einem der kräftigsten Oxydationsmittel werden[1]) und man kann nicht wissen, ob solche Vermittelungen in der Zelle zu Stande kommen.

Die Aufhellung der angedeuteten Frage hat wesentliche Bedeutung für die Kenntniss der Oxydationsvorgänge in der Zelle, also auch für die Causalität des Athmungsprozesses und für das Verständniss der Thatsache, dass z. B. in der lebenden Zelle vielfach Stoffe farblos bleiben, welche nach dem Tode durch den passiven Sauerstoff zu farbigen Producten oxydirt werden. Auf diese Verhältnisse kann aber erst weiterhin eingegangen werden, nachdem zuvor sachgemäss die Wirkungen des Wasserstoffdioxyds dargelegt sind, aus welchen sich das Fehlen des activirten Sauerstoffs und zugleich die Existenzfähigkeit des Wasserstoffsuperoxyds im Protoplasma ergiebt. Diese sichtbar werdenden oxydirenden Wirkungen des Wasserstoffdioxyds bestehen in Färbungen in farblosen und Entfärbung in farbigen Zellsäften, sowie auch in Entfärbungen des durch Cyanin künstlich gefärbten Protoplasmas. Solche wahrnehmbaren Veränderungen an natürlich gebotenen oder künstlich eingeführten Stoffen dienen also als Reagentien für Eindringen und Wirken des Wasserstoffsuperoxyds, Wirkungen, welche thatsächlich ohne Schädigung der Lebensthätigkeit ausführbar sind.

In methodischer Hinsicht handelte es sich um Auffindung geeigneter Objecte und um Einführung von Wasserstoffsuperoxyd in diese in einer solchen Weise, dass eine Schädigung nicht eintrat. Demgemäss muss sowohl die Concentration als auch die Dauer der Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds zweckentsprechend geregelt werden.

1) Vgl. die chemischen Handbücher. Ferner z. B. Schönbein, Journal f. prakt. Chemie 1868, Bd. 105, p. 214; Traube, Bericht d. chem. Ges. 1883, Bd. 16, p. 1206.

Die benutzten wässrigen Lösungen des Wasserstoffdioxyds enthielten in der Mehrzahl der Fälle zwischen 0,01 und 5% von diesem Körper, doch kamen auch geringere und bis zu 20% gesteigerte Concentrationen in Anwendung. Diese Lösungen wurden entweder unter Deckglas mit den Versuchsobjecten in Berührung gebracht, oder letztere wurden in Schälchen in eine grössere oder kleinere Flüssigkeitsmenge eingelegt. Besonders bei Verwendung sehr verdünnter Lösungen ist eine grössere Flüssigkeitsmenge von 100—400 ccm zu empfehlen, damit eine nicht zu geringe Menge von Wasserstoffdioxyd zur Verfügung steht und die Concentration sich nicht zu schnell ändert. Der Zersetzbarkeit des Wasserstoffsuperoxyds halber ist eine allmähliche Abnahme der Concentration unvermeidlich und es ist deshalb dann, wenn es auf continuirliche Einwirkung ankommt, geboten, die Lösung nach einigen Stunden zu erneuern und zur Controle zu prüfen, ob am Schlusse noch Wasserstoffsuperoxyd zugegen ist. Dieses ist bekanntlich durch Blauung bei Zusatz von etwas angesäuertem Stärkekleister zu erkennen, dem Jodkalium und eine Spur Eisenvitriol zugesetzt ist; auch kann, sofern andere reducirende Stoffe fehlen, die Entfärbung des mit Schwefelsäure angesäuerten Kaliumpermanganats als Reagens dienen. Aus den angegebenen Gründen ist es im allgemeinen zu empfehlen, bei Versuchen unter Deckglas, das Reagens öfters vermittelst Durchwaschen zu erneuern und durch Auflegen des Deckglases auf Papierstreifchen die Flüssigkeitsschicht zu verstärken.

Die Versuchsanstellung ist natürlich in jedem einzelnen Falle je nach dem Objecte und nach dem ins Auge gefassten Zwecke zu regeln. Als allgemeine Regel kann gelten, dass bei Vorhandensein schwer durchlässiger, so insbesondere cuticularisirter Zellhäute eine höhere Concentration anzuwenden ist, als bei leicht permeabeln Zellwänden. In letzterem Falle, so z. B. bei Wurzelhaaren, wird 0,01 bis 1 proc. Wasserstoffsuperoxyd gewöhnlich ausreichen und häufig wird schon nach kurzer Zeit die Einwirkung aufgehoben werden müssen, um schädliche Wirkungen zu vermeiden. Durch cuticularisirte Häute dringt aber Wasserstoffdioxyd nicht schnell und es kann längere Zeit verstreichen, ehe bei 5 proc. Lösung die Ankunft des Wasserstoffsuperoxyds im Innern der Zelle sich zu erkennen giebt. Ferner habe ich es vortheilhafter gefunden, die Lösungen nicht zu

verdünnt zu nehmen, um schon in kurzer Zeit oder doch in 10 bis 15 Minuten einen Erfolg zu erzielen, da anscheinend ein andauernd schwacher Einfluss den Protoplasmakörper mehr schädigt, als eine vorübergehende Einwirkung eines etwas concentrirteren Wasserstoffsuperoxyds, und zudem bei zu verdünnten Lösungen die Oxydation im Zellsaft ganz unterbleiben kann. (Vgl. Kap. 2.) Zu energische Einwirkungen des Wasserstoffsuperoxyds schädigen und tödten die Zelle in jedem Falle, doch habe ich, meiner Aufgabe entsprechend, diese nachtheiligen Einwirkungen nicht näher in den Bereich meiner Untersuchungen gezogen. Uebrigens wird die Feststellung des Fehlens einer merklichen Reaction öfters Veranlassung geben, die Concentration des Wasserstoffsuperoxyds bis zur schädlichen Einwirkung zu steigern.

Das benutzte Wasserstoffsuperoxyd war rein, namentlich auch frei von Barytsalzen und enthielt nur ein klein wenig freie Salzsäure, wodurch bekanntlich die Haltbarkeit wesentlich gesteigert wird. Da aber freie anorganische Säuren, selbst in sehr grosser Verdünnung, schnell in Zellen eindringen und tödtlich wirken[1]), wurde die Säure mit Natriumbicarbonat neutralisirt und, mit Rücksicht auf die verminderte Haltbarkeit, dieses neutrale Wasserstoffsuperoxyd täglich neu hergestellt. Der Bequemlichkeit und Sicherheit halber wurde ein kleiner Ueberschuss der Lösung von Natriumbicarbonat zugegeben, da dieses in kleinen Mengen ganz unschädlich ist. Dieser Ueberschuss hielt sich zwischen 0,03 und 0,1 %, aber selbst in 0,5 proc. Natriumbicarbonat nehmen die Staubfadenhaare von Tradescantia virginica und die Wurzelhaare von Trianea bogotensis während 24 Stunden keinen Schaden. Dabei dringt das Natriumbicarbonat in die lebenden Zellen nicht in merklicher Menge ein[2]), wie die unveränderte Färbung von Tradescantia zeigt, während der blaue Farbstoffauszug dieser Pflanze schon bei mässigen Mengen von Natriumbicarbonat einen blaugrünen Ton annimmt.

Der in Gewichtsprocenten angegebene Gehalt an Wasserstoff-

1) Pfeffer, Osmotische Unters. 1877, p. 135.

2) Auf Verwandlung des sauren Carbonats in das alkalisch reagirende Natriumcarbonat ist hier keine Rücksicht zu nehmen, da in unseren Versuchen die Kohlensäurezersetzung nicht oder doch in zu geringem Grade thätig war. Vgl. übrigens Hassack, in Unters. a. d. botan. Institut in Tübingen 1886/88, Bd. II, p. 469.

superoxyd wurde nach Zusatz von Schwefelsäure durch Titriren mit $^1/_{10}$ Normallösung von Kaliumpermanganat ermittelt[1]). Der Zersetzbarkeit halber wurde der Gehalt der Ausgangslösung von Zeit zu Zeit wieder bestimmt, wobei sich übrigens ergab, dass sich z. B. der Titre einer 3 proc. leicht sauren Wasserstoffsuperoxydlösung bei Aufbewahren in mässiger Temperatur während 8 Tagen nur in kaum merklicher Weise geändert hatte. Es würde aber auch schon eine nur annähernde Gehaltsbestimmung den praktischen Bedürfnissen in unserem Falle genügen, da es auf eine genaue Ermittelung des Verhältnisses von Concentration und Wirkung nicht abgesehen war und zudem würde eine solche Bestimmung bei der Zersetzbarkeit des Wasserstoffsuperoxyds besondere Schwierigkeiten bieten. Denn bekanntlich erfährt Wasserstoffsuperoxyd durch mannigfache Ursachen, so z. B. schon durch Glassplitter, eine beschleunigte Zersetzung, und dass ebensogut Papierstreifchen, Algenfäden und andere Pflanzentheile einen Zerfall veranlassen, zeigen direct die Blasen von Sauerstoff, welche sich um solche Körper bei Anwendung von 1- bis 5 proc. Wasserstoffdioxyd entwickeln. Aber auch in sehr verdünnten Lösungen dieser Verbindung nimmt bei Anwesenheit von einer geringen Menge lebender Pflanzentheile, z. B. bei Gegenwart einiger Fäden von Spirogyra, der Gehalt allmählich ab, wie schon früher angedeutet wurde. Sicherlich wird aber diese zersetzende Wirkung durch Pflanzentheile specifisch verschieden sein und schon der ungleichen Qualität und Dicke der Zellhäute, und der damit verknüpften ungleichen Durchlässigkeit halber, kann die zum Protoplasma gelangende Wasserstoffsuperoxydlösung von ungleicher Concentration sein, wenn zwei differente Objecte in dieselbe Lösung gebracht sind. Es muss dieserhalb auch die Möglichkeit ins Auge gefasst werden, dass aus verdünnteren Lösungen Wasserstoffsuperoxyd vielleicht einmal gar nicht bis zum Protoplasma oder bis zum Zellsaft gelangt, ein Punkt, von dem später noch die Rede sein wird.

Den Einfluss der Temperatur auf die Reactionen versuchte ich nicht festzustellen und es sei hier ein für allemal gesagt, dass, wo nicht Anderes bemerkt ist, meine Versuche zwischen 16° und 21° C. ausgeführt wurden.

---

1) GRAHAM-OTTO, Lehrbuch d. Chemie 1878, V. Aufl., Bd. II, 1, p. 261.

II. Die Wirkung von Wasserstoffsuperoxyd in der lebenden Zelle.

A. Allgemeines.

Zunächst sollen hier die Erfahrungen über färbende und entfärbende Wirkungen besprochen werden, welche direct durch Wasserstoffsuperoxyd im Zellsaft erzielbar sind, um erst weiterhin die Versuche mit künstlich eingeführten Farbstoffen zu behandeln. Solche sichtbare Reactionen im Zellsaft (Vacuolenflüssigkeit) dienen uns zunächst nur als Mittel, um das Eindringen des Wasserstoffdioxyds in lebende Zellen zu controliren, und in diesem Sinne ist natürlich ein ausgedehnter Gebrauch möglich, ohne von den reagirenden Stoffen, dem Vorgang und den Producten der Reaction eine nähere Kenntniss zu haben, die thatsächlich zur Zeit nicht vorliegt.

Wasserstoffsuperoxyd ruft aber nur in einer beschränkten Zahl von Pflanzen leicht wahrnehmbare Reactionen hervor, und nur diese auf empirischem Wege ermittelten Objecte sind in besagter Weise als physiologische Reagentien zu benutzen. Als geeignete Objecte lernte ich u. a. die Wurzelhaare von Trianea bogotensis, Wurzel und Stengel der Keimpflanzen von Vicia faba und die Staubfadenhaare von Tradescantia virginica kennen. Mit diesen Pflanzen operirte ich hauptsächlich und an sie kann ich mich in den folgenden Mittheilungen zunächst um so mehr halten, als die weniger ausgedehnten Erfahrungen mit anderen Pflanzen der Hauptsache nach sich anschliessende Resultate lieferten. Für die Erledigung der Hauptfragen, welche sich an das Eindringen und an die Existenz von Wasserstoffsuperoxyd knüpfen, genügte thatsächlich die Benutzung einiger brauchbaren Indicatorpflanzen und es war nicht meine Absicht, weitere Einzelheiten über die Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds kennen zu lernen, die übrigens zweifellos noch manches Interesse bieten wird, wie schon aus einzelnen Beobachtungen zu entnehmen ist.

Unter den drei Versuchspflanzen ruft das eindringende Wasserstoffdioxyd in dem so gut wie farblosen Zellsaft von Trianea und Faba ansehnliche rothbraune Färbung hervor, während der blaue Zellsaft in den Staubfadenhaaren von Tradescantia farblos oder leicht gelbbräunlich oder weingelb wird. Auf solche Entfärbungen resp.

Farbenänderungen in blauen oder rothen Zellsäften, sowie auf Färbung farbloser Zellsäfte laufen die bisher beobachteten auffälligen Reactionen hinaus.

Trianea und Faba sind beides ausgezeichnete Versuchsobjecte, in denen Wasserstoffsuperoxyd sogleich mit Eindringen in den Zellsaft sehr auffällige Färbung erzielte. Diese wird endlich bei Keimpflanzen von Faba in der Epidermis von Stengel und Wurzel, sowie in den Wurzelhaaren so intensiv, dass der Zellsaft tief rothbraun erscheinen kann. Individuelle Abweichungen in der Intensität der maximalen Färbung fanden sich bei Faba und noch auffälliger in den jüngeren und eben ausgewachsenen Wurzelhaaren von Trianea, welche ich zu meinen Versuchen benutzte. In diesen erreicht die im Colorit von der Reaction in Faba etwas verschiedene Färbung zuweilen fast die Intensität wie in den Epidermiszellen und in den Wurzelhaaren von Faba. Zumeist ist aber die maximale Färbung in den genannten Zellen von Faba tiefer, als in den Wurzelhaaren von Trianea, in welchen indess immer die Färbung so ansehnlich ist, dass sie selbst bei stärkerer Vergrösserung höchst auffällig hervortritt.

Einige Zeit nach oder fast Hand in Hand mit dieser Färbung beginnt zumeist in beiden Versuchspflanzen eine Ausscheidung braunröthlicher Körnchen, durch welche der Zellsaft partiell oder auch fast ganz entfärbt werden kann. Es rührt dieses daher, dass das farbige Oxydationsproduct unter den im Zellsaft gebotenen Verhältnissen zumeist nur in begrenzter Menge oder kaum löslich ist und demgemäss sich mehr oder weniger ausscheidet. Näheres hierüber enthält das folgende Kapitel und es mag hier nur noch darauf hingewiesen sein, dass, dem Gesagten entsprechend, bei einer nur geringen Anfärbung durch eine vorübergehende Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd die Ausscheidung auch ganz unterbleiben kann. Diese Ausscheidungen sind in ihrer Gestaltung ähnlich den Gerbsäureausscheidungen, welche Ammoncarbonat z. B. in Spirogyra und in den Wurzelhaaren von Azolla erzielt[1]), und wie bei diesen, bieten sich Unterschiede in der Feinheit und der Aggregation unserer Körnchen,

1) PFEFFER, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen 1886/88, Bd. II, p. 239; KLERCKER, Studien über Gerbstoffvacuolen 1888, p. 32. Separatabz. aus Svenska Vet. Akad. Handlingar, Bd. 13.

welche, bevor die Ammoncarbonatfüllung sich weiter verändert hat, ein viel tieferes Colorit als letztere besitzen. Mit diesem Hinweis auf ähnliche Gestaltung soll indess keineswegs eine chemische Identität behauptet sein.

Sehr schnell reagiren die Wurzelhaare von Trianea bogotensis. Bei Zufuhr von 1procentigem Wasserstoffsuperoxyd unter Deckglas beginnt die Färbung fast augenblicklich, doch auch bei 0,1 Procent Wasserstoffdioxyd kann dieselbe in weniger als 1 Minute, und sogar bei 0,01 Procent in 1 bis 2 Minuten bemerklich werden und selbst in letzterem Falle während 5 bis 10 Minuten zu tiefstem Colorit gestiegen sein. Dabei ist dieses Object sehr geeignet, um zu constatiren, dass während und nach der Einwirkung die Gestaltung und die lebhafte Strömung des farblos bleibenden Protoplasmas sich unverändert erhalten. Doch müssen zu diesem Zwecke natürlich schädliche Einwirkungen vermieden werden, und es dürfte sich deshalb empfehlen, mit 0,01procentigem Wasserstoffsuperoxyd unter Deckglas oder auch im Schälchen zu operiren.

Mit den Keimwurzeln von Faba lässt sich auch makroskopisch in sehr schöner Weise die Oxydationswirkung demonstriren. Denn taucht man eine junge Keimwurzel oder auch eine Seitenwurzel in 1procentiges Wasserstoffdioxyd, so beginnt sie fast augenblicklich sich zu färben und nach 3 bis 7 Minuten ist sie intensiv kirschroth oder braunroth geworden. Wird nun das Wasserstoffsuperoxyd abgespült, so pflegt nach 10 bis 40 Minuten eine schmutzig braunrothe Färbung sich eingestellt zu haben, die eine Folge der schon erwähnten Ausscheidung des anfänglich gelösten Oxydationsproductes ist. Uebrigens wird auch durch Eintauchen in 0,01procentiges Wasserstoffsuperoxyd nach wenigen Minuten der Beginn und nach 10 bis 15 Minuten eine weitgehende Färbung erreicht.

Bei Faba sind sowohl in der Wurzel, als am Stengel wesentlich die Epidermiszellen (einschliesslich der Wurzelhaare) und die subepidermalen Zellen reactionsfähig, während in vielen Zellen der übrigen Gewebe Wasserstoffsuperoxyd nur schwache oder auch gar keine Färbung hervorruft, wie im Näheren im speciellen Theile gezeigt werden soll. Für mikroskopische Beobachtung wird man also die Epidermiszellen und Wurzelhaare am besten an radialen Längsschnitten oder an abgezogenen Epidermisstreifen ins Auge fassen und

so lässt sich eben so gut wie bei Trianea die Färbung und die Fortdauer des Lebens constatiren. Denn das Protoplasma, namentlich in den Epidermiszellen des Keimstengels von Faba, strömt zwar nicht so schnell wie das in den Wurzelhaaren von Trianea, aber immerhin ansehnlich genug, und ferner lehrt die Wachsthumsfähigkeit der durch Oxydation gefärbten Zellen, dass ihre normalen Functionen fortdauerten.

Ob, wie es mir schien, die genannten Zellen von Faba etwas leichter geschädigt werden, als die Wurzelhaare von Trianea, mag dahin gestellt bleiben. Auch habe ich nicht zu ermitteln gesucht, ob in der Dicke und der Qualität der Zellhaut, oder in anderen Umständen es begründet ist, dass anscheinend das Wasserstoffsuperoxyd etwas langsamer in die Wurzelhaare und in die Epidermiszellen von Faba eindringt, als in die Wurzelhaare von Trianea. Doch kann an mikroskopischen Schnitten aus Faba die Reaction durch 1- und 0,01 procentige Wasserstoffsuperoxydlösung fast ebenso schnell erzielt werden, als beim Eintauchen ganzer Wurzeln. Dieses gilt auch für die Epidermiszellen des Stengels von Faba, welche an den Schnittflächen leicht durchlässige Zellwände bieten, während die cuticularisirte Aussenwand viel schwieriger permeabel ist. Dieserhalb dauert es bei Eintauchen von intacten Keimstengeln in 1 procentiges Wasserstoffsuperoxyd lange, bevor eine Reaction in der Epidermis bemerklich wird und selbst bei Verwendung von 3procentigem Wasserstoffdioxyd pflegen nach 15 Minuten nur einzelne Stellen bräunliche Färbung in den lebendigen Epidermiszellen zu zeigen.

Noch mag hier bemerkt sein, dass die fragliche Oxydationsfärbung bei Faba in gleicher Weise in chlorophyllfreien, als auch in den chlorophyllführenden subepidermalen Zellen des Stengels, sowie in chlorophyllführenden Zellen des Blattes eintritt, die sämmtlich im Leben farblosen Zellsaft führen. Bei Operationen mit dem Stengel dürfte es sich aber zumeist empfehlen, im Dunkeln erzogene farblose Stengeltheile zu verwenden.

Für die Entfärbung farbiger Zellen sind die bekannten Staubfadenhaare von Tradecsantia virginica ein vortreffliches Object. Unter Deckglas in Wasserstoffsuperoxyd gebracht, beginnt von der verletzten Zelle aus die Reaction und die angrenzende Zelle des Fadens kann in 1procentigem Wasserstoffdioxyd nach 2 bis 5 Minuten, bei 5procentigem fast augenblicklich entfärbt sein. Von dieser verletzten

Stelle rückt dann die Reaction von Zelle zu Zelle allmählich vor; wenigstens bei 1- und 3 procentigen Lösungen pflegt das Wasserstoffsuperoxyd durch die cuticularisirte Aussenwand seinen Weg nicht in die Zelle zu finden. So kommt es, dass nach einiger Zeit in einem Faden alle Phasen der Reaction zu finden sind. Zunächst der Wundstelle sind die Zellen durch die übermässige Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds getödtet, dann folgen 1 bis 5 entfärbte und partiell entfärbte Zellen, denen sich die von der Reaction noch unberührten Zellen anschliessen. Uebrigens wird während richtig geleiteter Reaction die Strömung des Protoplasmakörpers in unsern Staubfadenhaaren ebensowenig gestört, als in Trianea und Faba.

Beachtet man, dass das Wasserstoffsuperoxyd nur von der verletzten Zelle aus eindringt, so dürfte jenes, mit Rücksicht auf die relativ kleine Oberfläche der Querwand, durch diese wohl ebenso schnell seinen Weg finden, als durch die nicht cuticularisirten Wandungen bei Faba. Jedenfalls findet aber, wie die Versuche mit dem concentrirteren Reagens zeigen, die entfärbende Oxydation sofort mit dem Eintritt des Wasserstoffsuperoxyds statt. Da indess eine kleine Abnahme der blauen Färbung schwieriger wahrzunehmen ist, als eine beginnende Färbung eines farblosen Saftes, so dürften auch dieserhalb Trianea und Faba geeigneter sein, um Spuren einer Reaction durch Wasserstoffsuperoxyd zu erkennen.

Während oder nach der Entfärbung tritt in Tradescantia zum Theil eine reichliche körnige Ausscheidung im Zellsaft ein, zum Theil aber kommt solche nie zu Stande und gewöhnlich traf ich für die Zellen eines Fadens übereinstimmendes Verhalten. Bei unterbleibender Ausscheidung wird der Zellsaft, besonders in den lichter blau gefärbten Zellen, fast farblos oder nimmt etwas weingelben bis schwach gelbbraunen Ton an. So lange aber noch etwas blauer Farbstoff vorhanden ist, gibt dessen Colorit zu erkennen, dass während der Oxydation im Zellsaft die neutrale Reaction gewahrt wird.

Ganz ebenso verläuft die Reaction, wenn sich erst nach der Entfärbung die Ausscheidung einstellt, welche dann einen gelbbräunlichen Ton besitzt, während sie auch wohl blaugrün und schmutziggrün erscheint, wenn schon vor vollendeter Färbung die Ausscheidung eintrat. Offenbar wurde dann von dem blauen Farbstoff etwas mit niedergerissen und auf diese Weise, wie in ähnlichen späterhin zu

behandelnden Fällen, der Wirkung des verdünnten Wasserstoffsuperoxyds entzogen.

In den genannten Pflanzen — und für andere sich analog verhaltende gilt dasselbe — wird also durch Wasserstoffsuperoxyd eine Reaction hervorgerufen, welche in der lebendigen Zelle sich nicht einstellt, weder in normalen Bedingungen, noch unter verschiedenen abnormen Verhältnissen, so z. B. nicht in der Nähe verletzter Stellen, bei Chloroformirung, bei extremen Temperaturen, bei höherem oder geringerem Sauerstoffdruck. Durch Wasserstoffdioxyd werden also in unseren Objecten farblose, im Zellsaft gelöste Stoffe, die wir, wie üblich, Chromogene nennen, zu farbigen Producten oxydirt, oder es entstehen aus den im Zellsaft gelösten Farbstoffen farblose oder doch anders gefärbte Körper. Dass es sich hierbei um eine Oxydation handelt, kann der ganzen Sachlage nach nicht zweifelhaft sein. Uebrigens enthält Faba einen Körper, welcher in dem ausgepressten Saft auch schon durch den passiven Sauerstoff zu einem Farbstoff oxydirt wird und ebenso lässt sich für den Farbstoff von Tradescantia leicht zeigen, dass er nicht etwa durch Exosmose, sondern durch Oxydation verschwindet. Die Zellen der Blumenblätter dieser Pflanze reagiren nämlich ebenso wie die der Staubfadenhaare. Wenn man aber eine grössere Zahl Blumenblätter mit 5 procentigem Wasserstoffsuperoxyd übergiesst, so tritt, der Cuticula halber, zwar erst nach Stunden gänzliche Entfärbung ein, die Flüssigkeit aber erscheint farblos oder gelbbräunlich, während die gleiche Zahl Blumenblätter beim Aufkochen mit Wasser eine blaue Flüssigkeit liefert. Auch diese kann, nachdem eine Spur Eisensulfat hinzugefügt ist, sofort durch Wasserstoffsuperoxyd entfärbt werden.

Sehr beachtenswerth ist, dass Färbungen und Entfärbungen durch Wasserstoffsuperoxyd nach Entfernung dieses in den lebenden Zellen nicht wieder rückgängig werden. Demgemäss haben die Staubfadenhaare von Tradescantia nicht die Fähigkeit, den blauen Farbstoff von neuem zu bilden, und das dauernde Verbleiben auch der leichtesten und zu keiner Ausscheidung führenden Anfärbung im Zellsaft von Faba oder Trianea zeigt, dass dieser Farbstoff in den lebensthätigen Zellen weder verarbeitet noch durch Reduction wieder entfernt wird, vielmehr stabil in der fortlebenden Zelle verbleibt. Aus diesem Factum werden wir noch Schlussfolgerungen abzuleiten haben.

Mit andern Pflanzen wurden nicht so ausgedehnte Versuche angestellt, als mit den drei genannten Objecten, und zumeist beschränkte ich mich auf die Feststellung, ob mit Wasserstoffsuperoxyd eine auffällige Reaction eintrat oder unterblieb. Wenn ich diese Einwirkung, bei negativem Resultate, auch gewöhnlich bis zur Schädigung trieb, so ist deshalb doch möglich, dass fernere Untersuchungen in solchen Pflanzen eine Färbung oder Entfärbung erzielen, denn diese vollziehen sich durchaus nicht immer so schnell, als in den bisher behandelten Pflanzen, und für den Fall, dass Wasserstoffsuperoxyd nur allmählich die Oxydation bewirkt, kann eine längere Dauer der Einwirkung zum Erfolge nöthig werden. Indess hatte ich beim Suchen nach Indicatorpflanzen keine Veranlassung, nach solchen Verhältnissen näher zu forschen, und ferner ist zu beachten, dass meine Angaben sich immer nur auf bestimmte Zellen beziehen, andere Gewebe aber in denselben Pflanzen recht wohl ein verschiedenes Verhalten bieten können, wofür in Folgendem auch Beispiele angeführt werden. Auch ist auf geringfügige Farbenänderung keine Rücksicht genommen und vielleicht gibt es individuelle Differenzen. Wenigstens beobachtete ich einmal an den im Sommer aus dem Freien entnommenen Brennhaaren von Urtica dioica L. eine deutliche gelbbraune Färbung des Zellsaftes, während ich eine solche an den im Winter im Gewächshaus getriebenen Pflanzen nicht fand.

Anschliessend an die Staubfadenhaare und die Blumenblätter von Tradescantia virginica L. erwiesen sich leicht entfärbbar durch Wasserstoffsuperoxyd die blauen Blumenblätter von Solanum dulcamara L., Campanula rapunculus L., Iris sibirica L., Polemonium coeruleum L., und einer Gartenform von Phlox paniculata L. Dagegen wurde an der blauen Corolle von Fuchsia coccinea L. keine und an der von Centaurea Cyanus L. keine sichere Entfärbung beobachtet.

In rothen, also mehr oder weniger sauer reagirenden Zellsäften, fand ich leichte Oxydirbarkeit für die rothen Zellen, welche in den Nebenblättern von Hydrocharis morsus ranae L. die Gefässbündel begleiten und ebenso für die einzelnen rothen Zellen im Schwimmblatt dieser Pflanze; ferner in der Epidermis des Stengels von Atriplex hortense L. var. rubrum. In diesen Fällen nahm der schön kirschrothe Zellsaft eine licht gelbröthliche Färbung in Folge der Oxydation an. Auch die rothen Zellen in den Kelchzipfeln einer Gartenform von

Phlox paniculata L. wurden leicht entfärbt, während in dem schön rothen und sauer reagirenden Zellsaft der Zellen auf der Blattunterseite einer rothblättrigen Gartenform von Coleus Wasserstoffsuperoxyd nur allmählich eine entfärbende Oxydation zu erzielen vermochte.

Keine oder unsichere Entfärbung wurde beobachtet in dem purpurrothen oder feuerrothen Zellsafte der Corolle von Lamium purpureum L., Monarda Bradburiana Beck, Rosa centifolia L., Lathyrus sylvestris L., Tropaeolum majus L. (einzelne Zellen der Corollenanhänge mit rothem Zellsaft), Verbena hybrida hort., ferner des Kelchs von Fuchsia coccinea L. und der schuppenförmigen Haare am Blatte von Begonia rex Putz. Ebenso wurde bisher keine Entfärbung für Chlorophyllkörper und andere Farbstoffkörper der im speciellen Theile zu nennenden Pflanzen gefunden.

Eine in die Augen springende Färbung im farblosen Zellsaft wird durch Wasserstoffsuperoxyd in der Mehrzahl der Pflanzen nicht erreicht und die im speciellen Theile angeführte Liste der mit negativem Erfolg geprüften Pflanzen ist ansehnlich gegenüber den wenigen Pflanzen, in denen eine deutliche Reaction erzielt wurde. Eine ziemliche Oxydationsfärbung, ähnlich, wenn auch wohl etwas schwächer als bei Faba, beobachtete ich in der Epidermis des Blattes von Cytisus nigricans L. und Orobus niger L. Dagegen färbt sich gelbbraun der Zellsaft in den Köpfchen der Drüsenhaare des Blattes und des Stengels von Momordica elaterium L. und Cucurbita pepo L. Eine solche, doch schwächere Reaction zeigten ein oder einige anstossende Zellen des Stiels dieser Drüsenhaare, während die übrigen Zellen und ebenso die nicht drüsigen Haare von beiden Pflanzen mit Wasserstoffsuperoxyd keine Färbung zeigten. Mässige Färbungen ergaben auch die Epidermis des Stengels von Hydrangea hortensis und der Corolle einer unbestimmten Aloe, sowie farblose Blattzellen von Hydrocharis morsus ranae.

Bemerkenswerth ist, dass durch Wasserstoffsuperoxyd keineswegs eine Färbung in allen den Pflanzen erzielt wird, deren ausgepresste Säfte sich an der Luft durch Oxydation färben. Dahin gehört die bekanntlich sich mit dem Tod sehr stark schwärzende Monotropa hypopitys L., in deren Stengelblättern durch Wasserstoffsuperoxyd nur in einzelnen Zellen eine ganz schwache Anfärbung erreichbar war. Ohne Erfolg prüfte ich ferner die Wirkung von

Wasserstoffsuperoxyd auf die Zellen in der Knolle der Zuckerrübe und der Georgina variabilis W. Weiter erhielt ich keine Färbung für den Stengel von Solanum tuberosum L., für Stengel und Blätter von Hypericum perforatum L. und Juglans regia L. Uebrigens schwärzen sich, wie im speciellen Theile gezeigt wird, nach der Tödtung auch diejenigen Zellen im Stengel von Faba, welche durch Wasserstoffsuperoxyd nicht zu färben sind.

Es sind also keineswegs alle die Chromogene durch Wasserstoffdioxyd färbbar, welche nach dem Tode der Pflanze schon durch den passiven Sauerstoff farbige Oxydationsproducte liefern. Wie erst weiterhin gezeigt wird, hängt dieses damit zusammen, dass durch die Mischung räumlich getrennter Stoffe mit dem Tode neue Bedingungen für die Oxydation geschaffen werden. Aus diesen Thatsachen aber folgt, dass eine Färbung nach dem Tode wohl immerhin als Fingerzeig dienen kann, um nach Oxydationsfärbungen durch Wasserstoffsuperoxyd zu suchen, ohne indess im Voraus über den Erfolg etwas auszusagen.

Nunmehr wollen wir auf Eindringen und wahrnehmbare Wirkungen des Wasserstoffsuperoxyds zurückkommen.

Die verschiedenen Erfahrungen haben gelehrt, dass Eindringen und Wirken dieses Reagens sehr schnell erfolgen, dass aber auch die Qualität der Zellhaut, so insbesondere deren Cuticularisirung, stark hemmend wirken kann. Die Beeinflussung der Aufnahme durch diese Umstände gilt in analoger Weise für andere gelöste Stoffe[1]) und aus diesen Gründen wird man thunlichst, sofern die Wandungen schwierig permeabel sind, für erleichterte Aufnahme z. B. durch Darbietung von Schnittflächen sorgen müssen.

Für Wasserstoffsuperoxyd kommt aber ferner in Betracht, dass es durch verschiedene Ursachen mehr oder weniger leicht Zersetzung erfährt und eine solche auch durch sog. Katalyse, d. h. ohne eine Veränderung des bewirkenden Körpers eintritt. Eine solche Zersetzung veranlassen aber, wie schon ausgeführt wurde (p. 379), Pflanzen so gut wie etwa Papierstreifen, und gleichviel ob allein

1) Pfeffer, Pflanzenphys. I, p. 48. Vgl. auch Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen 1886/88, Bd. II, p. 202.

solche katalytische Zersetzung oder noch dazu Oxydationsvorgänge oder andere chemische Umsetzungen eine Rolle spielen[1]), jedenfalls erfährt damit das Vordringen des Wasserstoffdioxyds bis zum Zellsaft eine gewisse und zudem nach Dicke und Qualität der Zellhaut verschiedene Hemmung. Gleiches gilt wiederum für den Protoplasmakörper, in welchem das Wasserstoffsuperoxyd zwar, wie das Vordringen zum Zellsaft lehrt, nicht leicht, aber doch sicher in etwas zersetzt wird (mehr davon späterhin). So kann aus dem Zusammenwirken verschiedener Factoren erreicht werden, dass unser Reagens entweder gar nicht bis zum Protoplasmakörper gelangt, oder durch diesen nicht bis in den Zellsaft vordringt.

Erwägt man nun, dass die relative diosmotische Durchlässigkeit verschiedener Zellhäute für Wasserstoffsuperoxyd nicht bekannt ist, dass ferner die andern genannten Umstände in specifisch ungleichem Grade mitwirken, so ist schon dieserhalb klar, dass bei gleichem Reagens die Reaction im Zellsaft in specifisch ungleicher Schnelligkeit eintreten muss und dass die Grenze der noch wirksamen Verdünnung des Wasserstoffsuperoxyds von diesen und auch noch andern Umständen abhängig ist.

Für unsere Aufgaben ist eine nähere Kenntniss dieser Verhältnisse nicht von Bedeutung, doch müssen dieselben für richtige Deutung der Versuchsresultate wohl beachtet werden. So haben wir das negative Resultat mit zu verdünnten Lösungen von Wasserstoffsuperoxyd auf Nichteindringen zu schieben, dürfen also nicht daraus folgern, dass geringe Mengen unseres Reagens im Zellsaft keine Oxy-

---

1) Die Thatsachen über die Zersetzbarkeit des Wasserstoffsuperoxyds sind in chemischen Handbüchern zu finden. Ebenso ist seit SCHÖNBEIN bekannt, dass Pflanzentheile und auch Auszüge von pflanzlichen und thierischen Theilen eine zum Theil sehr energische Zersetzung veranlassen. (SCHÖNBEIN, Zeitschrift f. Biologie, 1868, Bd. IV, p. 368; BERT, Compt. rendus 1882, Bd. 94, p. 1385; BERGENGRUEN, Ueber die Wechselwirkung zwischen Wasserstoffsuperoxyd und verschiedenen Protoplasmaformen 1888, p. 28.) Es hat hier keine Bedeutung zu discutiren, ob, wie SCHÖNBEIN vermuthet, die Enzyme eine besonders hohe Zersetzungskraft besitzen, was indess nach BERT (l. c.) und nach BERGENGRUEN (l. c. p. 47) nicht zutrifft. Bemerkt mag noch werden, dass nach BERT (l. c. p. 1386) in Hühnereiweiss und in Eigelb das Wasserstoffsuperoxyd relativ beständig ist, was speciell für alkalische Lösungen auch WURSTER (Ber. d. chem. Ges. 1887, Bd. 20, p. 263) fand.

dation zu erzielen vermögen. Im Gegentheil führen die thatsächlichen Erfahrungen nothwendig zu dem Schlusse, dass, bei schnell reagirenden Pflanzen, die kleinste Menge von eindringendem Wasserstoffsuperoxyd sogleich mit dem Eintritt im Zellsaft Oxydation ausführt und dieserhalb, so lange oxydables Material vorhanden ist, Wasserstoffsuperoxyd als solches gar nicht im Zellsaft zu bestehen vermag. Demgemäss hat die Wirkungslosigkeit allzu verdünnter Lösungen seinen Grund nur darin, dass überhaupt kein Wasserstoffsuperoxyd bis in den Zellsaft gelangt. Denn wenn auch nur Spuren einträten, so müsste doch mit der Zeit durch die Summation der minimalen Oxydationswirkungen ein merklicher Erfolg erzielt werden, da, wie schon mitgetheilt, diese Oxydationswirkungen in der lebenden Zelle sich stabil erhalten. Ebenso wird ja auch Methylenblau aus den verdünntesten Lösungen schliesslich in ansehnlicher Menge angehäuft, sofern nicht ein antagonistischer Process entgegenarbeitet[1]. Ein solcher ist z. B. in Spirogyra die durch den sauren Zellsaft veranlasste Exosmose, während in unserem Falle die Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds auf dem Wege zum Zellsaft Oxydationswirkungen in diesem verhindert.

Die oxydirende Wirkung auch schon der geringsten Mengen des in den Zellsaft gelangenden Wasserstoffsuperoxyds wird übrigens schon durch die Erfolge mit sehr verdünnten Lösungen erwiesen, durch welche in jedem Augenblick nur Spuren des Reagens eintreten können. So wurde der Zellsaft in den Wurzelhaaren von Trianea bei Aufenthalt in 200 ccm eines 0,001 proc. Wasserstoffsuperoxyds im Laufe von 2—3 Stunden zwar schwach aber noch deutlich gefärbt, während 0,0001 proc. Lösung auch nach 24 Stunden keine, 0,01 proc. Wasserstoffsuperoxyd aber, wie schon erwähnt, sehr schnell sichtbare Reaction hervorrief. In den überhaupt sehr schnell reagirenden Wurzelhaaren von Trianea gelangt eben das Wasserstoffsuperoxyd noch leichter zum Zellsaft als in der Wurzel von Faba, die bei 24stündigem Verweilen in 0,001 % Wasserstoffsuperoxyd (500 ccm und 6mal erneuert) keine, in 0,01 % aber eine deutliche, jedoch schwache Färbung annahm. Zugleich ist aus der erfolgreichen Wirkung so verdünnter Lösungen zu entnehmen, dass das Wasserstoff-

1) Pfeffer, Unters. a. d. bot. Instit. in Tübingen, Bd. II, p. 201, 287.

superoxyd auf seinem Wege bis zum Zellsaft nur einer verhältnissmässig geringen Zersetzung ausgesetzt ist.

Da concentrirtere Lösungen in Trianea und in Faba unmittelbar mit der Einwirkung eine merkliche Farbenreaction erzielen, so ist damit erwiesen, dass Wasserstoffsuperoxyd sogleich mit seinem Eintritt in den Zellsaft oxydirend wirkt. Dem entsprechend schreitet nach sofortigem Abspülen mit Wasser die Reaction in Wurzelhaaren nicht weiter fort, wie es doch der Fall sein müsste, wenn die Oxydation nicht sogleich nach Eintritt des Wasserstoffsuperoxyds in den Zellsaft vollendet wäre.

Indess darf man solche rapide Oxydation, wie sie Trianea, Faba, Tradescantia und andere schnell reagirende Pflanzen vorführen, nicht allgemein erwarten, und der schon einmal erwähnte und noch weiterhin zu besprechende Coleus bietet einen Fall, in welchem das eingedrungene Wasserstoffsuperoxyd offenbar nur langsamer den rothen Farbstoff zu oxydiren vermag. Ueberraschen kann das nicht, da man von vornherein alle möglichen Abstufungen zwischen rapider und gänzlich unterbleibender Reaction erwarten darf. Zudem lehrt uns z. B. Indigolösung, dass die Entfärbung durch Wasserstoffsuperoxyd, je nach Fehlen oder Gegenwart von etwas Eisensalz, sehr langsam oder sehr schnell verlaufen kann.

Für die auffallende Hemmung durch die Cuticula, welche wohl wesentlich auf schwierige Permeabilität für gelöste Stoffe zu schreiben ist, wurden schon in dem Stengel von Faba und in den Staubfadenhaaren von Tradescantia Beispiele beigebracht. In letzteren schreitet bei Anwendung von 1- bis 5 proc. Wasserstoffsuperoxyd die Oxydationsreaction von der verletzten Zelle ab in ungefähr gleicher Schnelligkeit fort, wie die durch 1- bis 5 proc. Ammoncarbonat erzielbare Farbenänderung[1]). Hiernach scheinen in diesem Objecte Wasserstoffsuperoxyd und Ammoncarbonat ungefähr gleich schnell ihren Weg von Zelle zu Zelle zu finden. Natürlich ist damit nichts Bestimmtes über die diosmotische Aufnahmefähigkeit ausgesagt, doch dürfte wohl Sauerstoff leichter in die Zellen eindringen, da dieser, wie die Protoplasmaströmung lehrt, seinen Weg in die unter Wasser befindlichen cuticularisirten Zellen von Tradescantia nimmt, in welche

1) Vgl. Pfeffer, Osmotische Untersuchungen 1877, p. 140 Anmerkung.

Wasserstoffsuperoxyd in den angegebenen Concentrationen nicht in merklicher Menge eindringt.

Auch über die osmotische Leistung von Wasserstoffdioxyd stellte ich keine Versuche an und bemerke nur beiläufig, dass eine 5 proc. Lösung keine Plasmolyse in den Staubfadenhaaren von Tradescantia, auch nicht in den von der Wundstelle aus zugänglichen Zellen erzielte, während 5 proc. Ammoncarbonat plasmolysirte.

Die beschriebenen Oxydationen im Zellsaft sind ohne irgend eine bemerkliche Schädigung ausführbar. Denn während und nach der richtig geleiteten Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds ist in der Gestaltung des Protoplasmas nichts Abnormes zu bemerken und die Strömung dauert in unveränderter Weise fort, sowohl bei nur geringer Einwirkung, als auch dann, wenn die ganze Menge des Chromogens oder des Farbstoffs in der Zelle oxydirt wird. Dieses Resultat wurde sowohl mit Trianea, als auch mit Faba, Tradescantia und Hydrocharis erhalten und fiel sowohl bei eintretender als bei unterbleibender Ausscheidung im Zellsaft übereinstimmend aus.

Auch erwiesen sich die so behandelten Zellen nach 2—3 Tagen noch vollständig normal, als sie nach Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd in Wasser (Wurzeln von Trianea und Faba, Staubfadenhaare von Tradescantia, Nebenblätter von Hydrocharis) oder in Luft (Stengel von Faba) aufbewahrt worden waren. Für Wurzel und Stengel von Faba constatirte ich zudem noch die anscheinend unveränderte Wachsthumsfähigkeit der Zellen mit künstlich gefärbtem Zellsaft. Durch die Volumzunahme in wachsenden und sich theilenden Zellen nahm natürlich die Intensität der Färbung des Zellsaftes mehr und mehr ab und dabei gingen die Ausscheidungen in diesem theilweise oder ganz wieder in Lösung über. In den zur Zeit der Oxydation schon ausgewachsenen Zellen des Stengels fand ich nach 6 und auch nach 20 Tagen die Strömung und ebenso die Färbung unverändert. Ebenso traf ich die entfärbten Epidermiszellen des Stengels von Atriplex hortense var. rubrum, denen Protoplasmaströmung immer fehlt, nach 3 bis 4 Tagen lebend.

Die mitgetheilten Beobachtungen lehren zugleich, dass sich die Oxydationswirkungen im Zellsaft in den lebensthätigen Zellen unverändert erhalten. In der That wurde in den ausgewachsenen Stengeltheilen von Keimpflanzen weder nach einem, noch nach 20 Tagen

irgend eine Farbenänderung in den Epidermiszellen gefunden, gleichviel ob diese tief gefärbt oder eben nur merklich angefärbt worden waren. Es ist dieses namentlich auch makroskopisch an den durch Wasserstoffsuperoxyd hervorgerufenen farbigen Flecken zu verfolgen, deren Colorit sich unverändert erhält, doch ergiebt sich Gleiches, wenn man einige Stunden nach der Einwirkung ein Probestückchen entnimmt und nach Verlauf der Versuchsdauer die diesen benachbarten Zellen der mikroskopischen Beobachtung unterzieht. Ebenso fand ich auch die Oxydationsfärbung resp. Entfärbung unverändert nach 3 bis 4 Tagen in den Stengeln von Atriplex und nach 2 bis 3 Tagen in den ausgewachsenen Wurzelhaaren von Trianea und ebenso in den Staubfadenhaaren von Tradescantia und in den Nebenblättern von Hydrocharis.

Die genannten Pflanzen vermögen also in ihren normal lebensthätigen Zellen weder die Oxydationsfärbung aufzuheben, noch die blaue oder rothe Färbung des Zellsaftes wieder herzustellen. Aus dieser wichtigen Thatsache folgt also u. a. auch, dass die thätige Zelle das oxydirte Chromogen oder den oxydirten Farbstoff nicht reducirt und selbst kleine Mengen des durch Oxydation gebildeten farbigen Körpers in keiner Weise im Stoffwechsel consumirt, denn mit obigem Resultate ist ja jede wiederbildende oder verbrauchende Thätigkeit in der Zelle ausgeschlossen. Es gilt dieses zunächst natürlich nur für unsere Pflanzen unter den gebotenen Versuchsbedingungen, also auch für normale Lebensverhältnisse. Es ist damit nicht ausgeschlossen, dass durch besondere Einwirkungen andere Resultate erzielbar sind und dass andere Pflanzen zu einem verschiedenen Resultate führen. Auch ist z. B. nahe liegend, dass z. B. dann, wenn die Oxydationsentfärbung vorgenommen wird, bevor in den jugendlichen Zellen die ganze Menge des blauen oder rothen Farbstoffs entstand, der noch bildungsfähige Rest weiterhin entsteht.

Eine intensivere Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds hat natürlich, wie auch bekannt ist, schädliche und tödtliche Erfolge, doch habe ich diese nicht weiter verfolgt, da es mir nur darauf ankam, Reactionen ohne Benachtheiligung der Pflanze zu erzielen. Ich beschränke mich deshalb auf die Mittheilung einiger beiläufigen Erfahrungen.

Wie nicht anders zu erwarten, wird auch eine verdünntere

Lösung bei längerer Einwirkung endlich schädlich. So fand ich u. a. das Protoplasma in den Wurzelhaaren von Trianea bogotensis in 0,01 proc. Wasserstoffsuperoxyd nach 1/4 Stunde noch normal und strömend, bald darauf aber begannen Deformationen, die sich in ähnlicher Weise wie bei manchen andern schädigenden Einwirkungen, in Abreissen von Plasmatheilen, in Bildung von Vacuolen u.s.w. kund gaben und nach 1 bis 3 Stunden waren die Zellen getödtet[1]). Solche Tödtung trat bei 1- oder 5 % Wasserstoffsuperoxyd sehr schnell ein, während die Wurzelhaare in 0,001 % sich während 24 Stunden lebend erhielten und allmählich eine ziemlich weitgehende Oxydation im Zellsaft aufzuweisen hatten. Bei genügender Concentration wurden ähnliche Erfolge in Faba und in den Staubfadenhaaren von Tradescantia virginica, ebenso aber auch z. B. in Spirogyra, in der Wurzel von Lemna minor und Azolla filiculoides erzielt, in welchen durch Wasserstoffsuperoxyd keine merkliche Färbung bewirkt wird. Bemerkt mag noch werden, dass in der Wurzel von Lemna und Azolla, in welchen in der Epidermis und bei Azolla auch in den Wurzelhaaren Strömungen des Protoplasma fehlen, solche auch durch verdünntes und concentrirteres Wasserstoffsuperoxyd nicht hervorgerufen werden.

Ohne näheres Studium schien es mir doch, dass, wie es übrigens auch bei anderen endlich schädlichen Einwirkungen öfters zutrifft, Wasserstoffsuperoxyd bei vorübergehender Wirkung in mässiger Concentration weniger nachtheilig ist, als bei langdauerndem Einfluss in stärker verdünnten Lösungen, die nur sehr allmählich die Oxydationen herbeiführen. Zur Erzielung einer Oxydation in lebenden Zellen dürfte es sich also im Allgemeinen empfehlen, Concentrationen zu wählen, durch welche in nicht zu langer Zeit der erwünschte Erfolg erreicht wird, jedoch zu concentrirte Lösungen zu vermeiden, welche schnell schädliche Einflüsse bewirken. In Erwägung der wenn auch geringen zersetzenden Wirkung des Protoplasmas wäre es auch denkbar, dass bei langer Dauer selbst solche verdünnte Lösungen nachtheiligen Einfluss ausüben, die das Wasserstoffsuperoxyd wohl bis in das Protoplasma, nicht aber bis in den Zellsaft gelangen lassen.

---

1) Vgl. Pfeffer, Pflanzenphysiologie Bd. II, p. 385, 391; Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen 1886/88, Bd. II, p. 250.

Vermuthlich sind verschiedene Pflanzen, wie gegen andere Eingriffe, so auch gegen Wasserstoffdioxyd ungleich empfindlich. Eine sichere Entscheidung ist indess nicht so ganz einfach, da, wie früher dargethan, bei Benutzung gleich concentrirter Lösungen dauernd sehr ungleiche Mengen von Wasserstoffsuperoxyd an und in den Protoplasmakörper gelangen können. Versuche zur Aufhellung dieser Frage stellte ich nicht an und ich kann nur sagen, dass dem Gesammteindruck nach der Protoplasmakörper in Faba[1]) eher empfindlicher als der von Trianea und Tradescantia zu sein scheint. Uebrigens ist Wasserstoffsuperoxyd wenigstens keines der stärksten Gifte. Denn 0,001 proc. Lösungen werden von den Wurzelhaaren von Trianea lange Zeit ertragen und Bacterium termo stellt z. B. erst nach einiger Zeit in 1 proc. Lösung seine Bewegungen ein[2]). Verschiedene Infusorien gingen bei 0,1 bis 0,05 % nach 1—5 Minuten zu Grunde.

Eine sichtbare Reaction in der lebenden Zelle hängt natürlich von der Existenz eines entsprechend oxydablen Körpers ab und aus dem Mangel einer solchen Reaction folgt natürlich ebenso wenig, dass Wasserstoffsuperoxyd seinen Weg in eine solche Zelle nicht findet, als der Mangel der von bestimmten Stoffen abhängigen Speicherung des Methylenblaus kein Beweis gegen das Eindringen dieses Farbstoffes ist[3]). Die positiven Erfahrungen für Zellen sehr verschiedener Pflanzen lassen vielmehr keinen Zweifel, dass Wasserstoffsuperoxyd in das Protoplasma aller Zellen seinen Weg findet, vorausgesetzt natürlich, dass nicht etwa diosmotische Eigenschaften der Zellhäute oder zu energische Zersetzungsvorgänge das Vordringen des Reagens bis an und in das Protoplasma verhindern. Für das Eindringen sprechen auch entschieden die Deformationen und Schädigungen im Protoplasmakörper, welche in den mit Farbenänderungen reagirenden und nicht reagirenden Zellen im Allgemeinen gleich leicht eintreten, denn ohne Eindringen in das Protoplasma würde Wasserstoffsuperoxyd wohl ebensowenig schädlich und tödtlich wirken, als die nicht dios-

1) Auch gegen Methylenblau ist Faba relativ empfindlich. Vgl. Pfeffer, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. II, p. 226.

2) Ueber schädliche Wirkung von Wasserstoffdioxyd vgl. u. a. Liebreich, Chem. Centralblatt 1880, p. 589; Bert, Compt. rend. 1882, Bd. 94, p. 1384; Flügge, Die Mikroorganismen 1886, p. 531.

3) Vgl. Pfeffer, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. II, p. 194.

mirenden Verbindungen der Anilinfarben[1]), welche in aufnehmbarer Form in ähnlicher Weise schädlich wirken, wie unser Reagens.

Uebrigens ist im Cyanin ein Mittel geboten, um den Eintritt von Wasserstoffsuperoxyd auch in solche Zellen nachweisen zu können, in welchen direct keine sichtbaren Reactionen entstehen, und vermuthlich lässt sich solcher Nachweis auch noch durch andere einführbare Stoffe liefern (vgl. Cap. 5).

Nach der ganzen Sachlage kann es nicht zweifelhaft sein, dass die färbenden und entfärbenden Oxydationen durch das Wasserstoffsuperoxyd direct und nach Maassgabe seines Eintritts in den Zellsaft ausgeführt werden; dass also dieses Reagens nicht etwa indirect, indem es als Reiz wirkt, physiologische Processe in der lebensthätigen Zelle veranlasst, welche erst die Oxydationen ausführen. Gegen letztere Annahme spricht schon genügend die Thatsache, dass ebenfalls in dem ausgepressten Saft der Keimpflanzen von Faba und der Blumenblätter von Tradescantia die fraglichen Oxydationen durch Wasserstoffdioxyd hervorgerufen werden können. Mit Uebergehung anderer Argumente sei deshalb nur noch darauf hingewiesen, dass auch das künstlich eingeführte Cyanin in dem Protoplasma, ebenso wie ausserhalb des Organismus, durch Wasserstoffsuperoxyd entfärbt wird.

B. Specielle Beobachtungen.

Im Folgenden sollen verschiedene Belege und Einzelheiten für die Versuchspflanzen mitgetheilt werden, deren Einführung in die vorige allgemeine Darstellung über die Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds vermieden wurde. Zugleich kommen manche Thatsachen zur Besprechung, die erst in den folgenden Abschnitten weitere Verwendung für Schlussfolgerungen finden werden.

Vicia faba L.

Es wurde schon bemerkt, dass sich nicht alle Zellen dieser Pflanze durch Wasserstoffsuperoxyd färben lassen und dass insbesondere die Epidermiszellen in Stengel und Wurzel stark reagiren.

In dem epicotylen Glied und in den folgenden Internodien der im Topf erzogenen Pflanzen fand ich nach dem Auswachsen und

1) Vgl. Pfeffer, l. c., p. 195.

auch schon während der Streckung im wesentlichen Folgendes. Ungefähr gleich intensiv wie die Epidermis des Stengels, oder auch schon etwas schwächer, wurde die subepidermale Zellschicht gefärbt, während die nächstfolgende Zelllage zumeist ein merklich schwächeres Colorit bei maximaler Oxydationswirkung annahm. Im übrigen Gewebe erreichten zuweilen einzelne Zellen oder Zellcomplexe des Weichbastes fast die gleiche Färbung wie die Epidermiszellen. Die übrigen Zellen des Siebtheils waren entweder schwach oder gar nicht gefärbt, ebenso verhielten sich die andern Gewebemassen, in denen in manchen Schnitten fast nur farblose Zellen, in andern alle Abstufungen von ganz schwacher und ansehnlicher Reaction bei Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd beobachtet wurden. Nach einem flüchtigen Versuch mit einer Freilandpflanze bestehen auch in älteren Stengeln ähnliche Verhältnisse. Ebenso zeigte mir ein beiläufiger Versuch, dass die Oxydationsfärbung bis gegen das Urmeristem des Stengels und theilweise bis in dieses hinein auftrat, und auch in den jungen Blattanlagen sich bemerklich machte.

Für die eben ausgewachsenen Blätter einer Zimmerpflanze constatirte ich tiefe Oxydationsfärbung in der chlorophyllfreien Epidermis und schwächere, doch immerhin noch recht ansehnliche Reaction in den chlorophyllreichen Pallisadenzellen. Auch andere grüne Zellen reagirten zum Theil.

In der Streckungszone und der eben ausgewachsenen Partie der Haupt- und Seitenwurzeln bieten die Epidermis und die nach Innen anstossenden Zelllagen ein ähnliches Verhältniss wie im Stengel. Auch die sich ablösenden Zellen und die Haare werden ähnlich wie die Epidermis gefärbt. Im Binnengewebe der Wurzel fand ich durchgehends mehr sich färbende Zellen als im Stengel, doch lassen diese Beobachtungen, und ebenso die im Stengel individuelle und entwicklungsgeschichtliche Differenzen vermuthen.

Auch die Zellen der Wurzelhaube färben sich, so weit sie lebendig sind, ansehnlich. Gegen die Calyptrogenschicht nimmt die Färbungsfähigkeit ab, fehlt aber nur in den Zellen des embryonalen Gewebes.

Weitere Details habe ich nicht verfolgt. Die Erfahrungen zeigen aber zur Genüge, dass sich in Faba alle Abstufungen bis zu gar nicht mehr durch Wasserstoffsuperoxyd färbbaren Zellen finden.

Dieses Resultat ist nicht etwa durch mangelndes Eindringen von Wasserstoffsuperoxyd bedingt, denn ich operirte an Schnitten, meist Längsschnitten, in denen also diosmirbare Zellwände frei lagen und liess nöthigenfalls 3- oder 5procentiges Wasserstoffsuperoxyd bis zur Tödtung der Zellen einwirken.

Die sich nicht färbenden Zellen enthalten nach den Reactionen mit Kaliumdichromat und Eisensalz[1]) nicht weniger Gerbstoff als die stark mit Wasserstoffsuperoxyd reagirenden. Schlechthin von Gerbstoff kann also diese Oxydationsfärbung nicht herrühren und es ist auch, wie später zu zeigen ist, wahrscheinlicher, dass ein besonderes Chromogen vorhanden ist, welches deshalb immer noch der Gruppe der Gerbstoffe zugehören könnte. Mag solches zutreffen oder nicht, nicht unwahrscheinlich ist, dass das übrigens erst mit dem Tode in die Zelle eindringende Kaliumdichromat, das durch Wasserstoffsuperoxyd oxydable Chromogen gleichfalls oxydirt. Auch hat ja Klercker[2]) gefunden, dass andere Stoffe als Gerbstoffe in Pflanzen rothe Färbungen mit Kaliumdichromat geben können.

Die mit Wasserstoffsuperoxyd nicht reagirenden Zellen enthalten aber gleichfalls ein Chromogen, das nach dem Tode der Zellen durch den passiven Sauerstoff oxydirt wird. Denn die von den äusseren Gewebelagen befreiten Stengelstücke färben sich tief und werden endlich ganz schwarz, wenn sie unter feuchter Glocke durch Chloroformdampf zum allmählichen Absterben gebracht werden.

Ohne nähere Kenntniss des Oxydationsproductes ist es doch geboten, hier Einiges über die körnigen Ausscheidungen zu sagen, welche sich einige Zeit nach der Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd einstellen und zu einer partiellen oder fast totalen Entfärbung des Zellsaftes führen. So weit es diese Thatsachen und die Gestaltung der Ausscheidung anbelangt, ist das Nöthige schon mitgetheilt worden.

Diese Ausscheidungen sind zunächst mit der Tödtung der Zellen in Wasser partiell, in verdünnten Alkalien und Säuren und auch in Natriumdicarbonat leicht löslich. Durch Einwirkung von 0,5- bis

---

1) Ich verfuhr in der von Moll angegebenen Weise. Bot. Centralblatt 1885, Bd. 24, p. 250. — Ueber Gerbstoff in Faba vgl. Kutscher, Flora 1883, p. 51.

2) Studien über Gerbstoffvacuolen 1888, p. 35.

1 proc. Ammoniumcarbonat gelingt es auch, die Ausscheidung ohne Tödtung der Zelle wieder in Lösung zu bringen. In todten Zellen geht aber diese Ausscheidung nach 1 bis 3 Tagen in einen in verdünnten Säuren und Alkalien unlöslichen Zustand über, während in lebenden Zellen noch nach 20 Tagen die lösliche Modification erhalten war, und ebenso noch nach 30 Tagen, als sogleich nach der Reaction die Objecte in absoluten Alkohol gebracht worden waren. In diesem Verhalten besonders hat diese Auscheidung Aehnlichkeit mit der Gerbsäurefällung durch Ammoniumcarbonat[1]) von der indess dieses Oxydationsproduct qualitativ verschieden ist, und es mag hier schon bemerkt sein, dass das sich ausscheidende Oxydationsproduct in den Wurzelhaaren von Trianea nicht von Gerbstoff abstammen kann, da dieser bis auf Spuren in diesen Wurzelhaaren fehlt.

Bei Lösung des Niederschlags in Ammoncarbonat, und ebenso bei Einwirkung dieses Reagens auf gefärbte, aber noch von Ausscheidung freie Zellen geht die bisherige rothbraune Färbung in ein schmutziges Graugrün über. Durch Zuführung von verdünnter Citronensäure ist indess die frühere Farbe wieder herstellbar und so gibt dieses Oxydationsproduct auch Auskunft über die Reaction des Zellsaftes. Dieser ist demnach, wie es auch die gegen Lacmus schwach saure Reaction des ausgepressten Saftes anzeigt, etwas sauer. Die Oxydation vollzieht sich demgemäss bei Faba in einem schwach sauren Zellsaft und diese Reaction bleibt während der fortschreitenden Oxydation durch Wasserstoffsuperoxyd unverändert.

Nach dem Gesagten wird die ungleich weitgehende Ausscheidung im Zellsaft, wenigstens der Hauptsache nach, verständlich. Denn bei der Löslichkeit des Oxydationsproductes in Säuren wird von diesem um so mehr gelöst bleiben, je saurer der Zellsaft ist. Die Ausscheidung an sich lässt also wiederum vermuthen, dass diese saure Reaction nicht ansehnlich ist, doch lassen sich ganz sichere Schlüsse in dieser Hinsicht nicht ziehen, da die saure Reaction wohl von sauren Salzen[2]) herrühren dürfte und noch andere Verhältnisse in dem Zellsaft eine Rolle für die Ausscheidung mitspielen werden.

---

1) Vgl. Pfeffer, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen, Bd. II, p. 242; Klercker, l. c., p. 32.

2) Vgl. Pfeffer, Unters. a. d. Tübinger Institut, Bd. II, p. 293.

Die schon erwähnten Wachsthumsversuche wurden sowohl mit dem Stengel als mit der Keimwurzel von Faba angestellt. Taucht man den Stengel etiolirter oder nichtetiolirter Pflanzen in 3 % Wasserstoffsuperoxyd, so stellen sich, der schwer permeablen Cuticula halber, nach 8—15 Minuten einzelne gefärbte Flecken ein. Sobald diese bemerklich waren, wurde die Pflanze abgespült und wiederum eingepflanzt. In einem solchen Falle besass die Pflanze ausser dem epicotylen Glied noch zwei sichtbare Internodien, von welchen aber das obere noch unausgewachsen war. Nach 20 tägigem Aufenthalt hinter einem Ostfenster hatte sich dieses Internodium um ungefähr 60 % verlängert, während das epicotyle Glied unveränderte Länge bewahrt hatte. In letzterem war die Färbung der Flecken und damit der lebenden Zellen unverändert geblieben, während die gewachsenen Stellen des nächstfolgenden Internodiums abgeblasst, im übrigen aber die Zellen ebenfalls lebendig geblieben waren.

Zu gleichem Resultat führte auch ein weiterer Versuch im Licht und ein anderer, in welchem die Pflanzen während 10 Tagen nach der Färbung dauernd im Dunklen gehalten worden waren.

Ferner wurden mit gleichem Erfolge Versuche mit drei Keimwurzeln angestellt. In einem Falle war z. B. die 24 mm lange Wurzel von Faba während 5 Minuten in 1 procentiges Wasserstoffsuperoxyd getaucht und darauf in Wasser gebracht. In diesem hatte sich dieselbe während 24 Stunden um 11 mm verlängert und die Epidermiszellen in der gewachsenen Zone zeigten nun mehr oder weniger minderfarbigen Inhalt. Dagegen hatten die nicht gewachsenen Zellen dasselbe Colorit bewahrt, welches sie 3/4 Stunden nach der Einwirkung des Wasserstoffdioxyds, also nachdem die Ausscheidung des Oxydationsproductes sich vollzogen hatte, besassen.

Trianea bogotensis Karst.

Um Wurzeln und Wurzelhaare dieser Pflanze in sehr brauchbarem Zustand zu erhalten, pflege ich, wie ich es schon früher that, die Pflanze nach Entfernung der alten Wurzeln neue auf einer nicht zu geringen Menge Wasser treiben zu lassen, das nur wenig anorganische Salze enthält. An Stelle des früher in Tübingen verwandten Regenwassers, das in Leipzig unbrauchbar ist, benutze ich jetzt destillirtes Wasser, dem 0,01 bis 0,02 % anorganische

Salze der Knop'schen Nährlösung zugesetzt sind. Bietet man genügende Temperatur, damit die Entwicklung schnell von statten geht und dämpft man durch Umhüllung des Glascylinders mit dunklem Papier das zu den Wurzeln nun allein von der Wasserfläche aus gelangende Licht, so erhält man zu Versuchen sehr geeignete mässig kräftige Wurzeln, denen fremde Organismen kaum ansitzen und deren Zellwand wenig fremde Stoffe eingelagert hat. Letzteres ist freilich nicht für unsere Versuche, wohl aber für Experimente mit Anilinfarben von Bedeutung, da diese sonst leicht die Zellwände stark färben.

Meist wurden 1 bis 2 cm lange Wurzeln direct oder Schnitte aus diesen mit Wasserstoffsuperoxyd behandelt und hauptsächlich kamen noch nicht ganz ausgewachsene Wurzelhaare zur Beobachtung. In diesen, deren Zellsaft farblos oder kaum merklich röthlich ist[1]), erfolgt, wie schon mitgetheilt, die rothbraune Oxydationsfärbung im Zellsaft sehr schnell und noch während dieser Färbung, oder sehr bald nachher, pflegt die Ausscheidung sich in ähnlicher Weise einzustellen, wie in Faba. Die auch hier amorphen, nicht doppeltbrechenden und mehr oder weniger zu Häufchen sich aggregirenden Körnchen werden dann auch wohl, indem sie dem Protoplasma adhäriren, in ähnlicher Weise mit dessen Strömung herumgeführt, wie z. B. die durch Methylenblau erzielten Ausscheidungen im Zellsaft.

Wie die Farbenspeicherung[2]) ist auch die Färbung durch Wasserstoffsuperoxyd individuell ziemlich verschieden, doch immer auffällig genug. Es gilt dieses auch für die ausgewachsenen Wurzelhaare, welche ich nicht näher studirte. Ebenso habe ich nur nebenbei constatirt, dass in der Wurzelepidermis und in den Zellen der Haube durch Wasserstoffsuperoxyd Färbung und Ausscheidung in ähnlicher, jedoch meist in weniger ansehnlicher Weise hervorgerufen wird, wie in den Wurzelhaaren.

Verwendet man Wurzelhaare, deren Zellsaft durch 3stündigen Aufenthalt in 0,001proc. Lösung von Methylenblau tief gefärbt ist[3]), so wird mit der durch die Wasserstoffsuperoxydeinwirkung erzielten

1) Vgl. Pfeffer, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen, Bd. II, p. 209.
2) Pfeffer, l. c., p. 208.
3) Ueber diese Methylenblaufärbungen u. s. w. vgl. Pfeffer, l. c., p. 208 ff.

Ausscheidung das Methylenblau mit niedergerissen und der Niederschlag nimmt einen der Mischung von Rothbraun und Blau entsprechenden Farbenton an. Hatte sich aber nach 24stündigem Verweilen in einer 0,0002proc. Farbstofflösung die Methylenblauverbindung im Zellsaft der Wurzelhaare krystallinisch ausgeschieden, so brachte dennoch Wasserstoffsuperoxyd die rothbraune Oxydationsfärbung hervor. Analog verhielten sich die Zellen der Wurzelhaube, nachdem in diesen der speichernde Stoff, der hier wahrscheinlich Gerbsäure ist, als Methylenblauverbindung in Körnchen ausgeschieden war.

Da diese Reactionen nach voller Sättigung der Zellen mit Methylenblau erhalten werden, so müssen die Körper, welche diesen Farbstoff speichern, verschieden von den Stoffen sein, welche durch Wasserstoffsuperoxyd zu farbigen Producten oxydirt werden. Ob diese Färbung, wie es scheint, nach Ausscheidung der Methylenblauverbindungen etwas geringer ist, lasse ich dahin gestellt, doch könnte solches schon durch Aufnahme eines Theiles des Chromogens in die Methylenblauausscheidungen bedingt sein. Umgekehrt wird ja auch im Zellsaft der Wurzelhaare durch die Wasserstoffsuperoxydeinwirkung die Ausfällung des gespeicherten gelösten Methylenblaus sofort erzielt. Ob diese Ausfällung nur durch den Act der Ausscheidung des Oxydationsproductes veranlasst wird, oder ob noch andere Umstände mitspielen, suchte ich nicht zu erforschen.

Die Combination der angeführten Erfahrungen und der Thatsache, dass die Wurzelhaare von Trianea kaum nennenswerthe Spuren von Gerbsäure enthalten, kann wohl durch weiteres Studium zu einem gewissen Aufschluss über die Qualität des oxydablen Chromogens führen. Ein mit Kaliumbichromat oder Eisensalz reagirender Gerbstoff kann dieses in den Wurzelhaaren nicht sein, da eine zureichende Menge eines solchen Gerbstoffs nicht vorhanden ist. Ferner ist dieses Chromogen nicht der Methylenblau speichernde Körper und damit stimmt auch, dass die Zellen der Wurzelhaube ebenfalls Oxydationsfärbung liefern, obgleich sie denjenigen Körper nicht enthalten, welcher in den Wurzelhaaren die Speicherung einer gelösten Methylenblauverbindung herbeiführt.

Tradescantia virginica L.

Für die Staubfadenhaare dieser Pflanze ist die Entfärbung durch Wasserstoffsuperoxyd beschrieben, ebenso ist des hemmenden Einflusses der Cuticula und der theilweise mit und nach der Oxydation eintretenden Ausscheidung gedacht worden. In meinen Versuchen stellte sich diese Ausscheidung bei Benutzung der bereits einige Zeit aufgegangenen Blüthen fast immer ein, fehlte aber meist in den noch nicht aufgeblühten oder in Aufblühen begriffenen Objecten. Doch beobachtete ich Ausnahmen von dieser Regel und andere Individuen mögen deshalb wohl ein anderes Resultat ergeben. Die Oxydation des blauen Farbstoffs geht wohl sicher immer in derselben Weise vor sich und es müssen also irgendwelche im Zellsaft schon vorhandene oder erst durch die Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd geschaffene Verhältnisse dafür entscheidend sein, ob keine, partielle oder totale Ausscheidung des Oxydationsproductes eintritt. In der Menge dieses kann die Ursache nicht liegen, da auch tiefst blau gefärbte Zellen ohne Ausscheidung bleiben, und ebenso besteht nach der blauen Färbung in den sich bezüglich der Ausscheidung different verhaltenden Zellen dieselbe neutrale Reaction im Zellsaft.

Da der Zellsaft nach der Oxydation im Allgemeinen um so mehr eine schwach weingelbe Färbung hat, je tiefer blau er zuvor war, so liefert der blaue Farbstoff bei der Oxydation durch Wasserstoffsuperoxyd offenbar einen etwas gelbbraun gefärbten Körper. Dieser ist aber auch ein Indicator für Säuren und Alkalien. Denn mit etwas Ammoncarbonat oder ganz verdünntem Ammoniak (1 Tropfen auf 20 ccm Wasser) wird der Zellsaft viel ansehnlicher gelbbraun, durch etwas Essigsäure (1 Tropfen auf 10 ccm Wasser) wird er aber anscheinend noch lichter als er es zuvor war. Aehnliche Reactionen sind übrigens mit dem durch Wasserstoffsuperoxyd entfärbten Auszug der Blumenblätter von Tradescantia zu erhalten. Nach diesem Verhalten hat der Zellsaft auch nach der Reaction eine mehr oder weniger neutrale Reaction, wie sie die blaue Farbe vor und auch während der Entfärbung anzeigte, denn Säuren und Alkalien führen rothe, resp. graugrüne Färbung des blauen Zellsaftes herbei[1]).

1) Pfeffer, Osmot. Unters. 1877, p. 140.

In kleinen Schnitten aus den Blumenblättern geht die Entfärbung durch Wasserstoffsuperoxyd ebenso und ebenso leicht von statten, wie in den Staubfadenhaaren, während die ganzen Blumenblätter, der Cuticula halber, nur allmählich durch concentrirteres Wasserstoffsuperoxyd entfärbt werden, wie das schon früher (p. 385) mitgetheilt wurde.

In den ganz jungen Staubfadenhaaren mit farblosem Zellsaft vermag eine sehr allmähliche Einwirkung von Wasserstoffdioxyd keine vorübergehende blaue Färbung zu erzielen. Demgemäss wird der blaue Farbstoff nicht durch partielle Oxydation eines schon in den jungen Zellen vorhandenen Chromogens gebildet.

Hydrocharis morsus ranae L.

In den submersen Nebenblättern begleiten Zellen mit hell purpurrothem Zellsaft die Gefässbündel. In diesen Zellen wird der Zellsaft schnell gelbröthlich, wenn man z. B. 1 proc. Wasserstoffdioxyd auf ein Nebenblatt direct wirken lässt. Zugleich erhalten die zuvor farblosen Zellen einen etwas gelbgrünen Zellsaft und es ist deshalb wahrscheinlich, dass aus diesem Oxydationsproduct eines farblosen Chromogens und der Färbung des Oxydationsproductes des rothen Farbstoffs das Colorit der zuvor purpurrothen Zellen resultirt. In gleicher Weise reagiren auch die farblosen und die vereinzelt vorkommenden rothen Zellen in den Schwimmblättern dieser Pflanze.

Da der Zellsaft in den Nebenblättern mit Spuren von Säure heller roth, mit Spuren von Ammoniak aber zunächst blau wird, so ist er schwach sauer. Diese Reaction ändert sich während der Oxydation durch Wasserstoffsuperoxyd nicht, wie sich daraus entnehmen lässt, dass das rothe Colorit bis zum Schwinden des Farbstoffs bleibt und die Farbenänderungen durch Säure und Alkali in dem entfärbten Zellsaft eine schwach saure Reaction in diesem anzeigen.

Atriplex hortense L. var. rubrum.

Die schön kirschrothen Stengel dieser Varietät enthalten rothen und sauren Zellsaft in den Epidermiszellen, der in ähnlicher Weise wie bei Hydrocharis durch Wasserstoffsuperoxyd gelbroth gefärbt wird. Es tritt dieses auch makroskopisch sehr schön hervor, wenn

man ganze Stengelstücke in Wasserstoffsuperoxyd bringt, das aber, der Cuticula halber, concentrirter, etwa 3 procentig, zu nehmen ist. Die Epidermiszellen besitzen keine Protoplasmaströmung, erwiesen sich aber 3 Tage nach der Entfärbung, oder richtiger Verfärbung durch Wasserstoffsuperoxyd lebendig.

Coleus spec.

Von dieser Gartenform mit tief rothen Blättern wurden die Epidermis der Blattunterseite und deren Haare z. Th. an Blattquerschnitten, z. Th. an abgezogenen Epidermisstreifen der Prüfung unterzogen. Der purpurrothe Zellsaft dieser Haare ist schwach sauer, da er mit etwas Säure heller, mit Ammoncarbonat zunächst blau wird.

Mit 5 proc. Wasserstoffsuperoxyd, unter öfterem Erneuern dieses, unter Deckglas behandelt, war der Zellsaft nach 2 Stunden, namentlich in den Epidermiszellen und in den Basalzellen der Haare theilweise stark abgeblasst, aber erst nach 3 Stunden waren diese Zellen zum Theil ganz entfärbt. Diese Entfärbung wird aber hier durch alkalische Reaction im Zellsaft erheblich beschleunigt. Denn bei Verwendung von 5 proc. Wasserstoffsuperoxyd, welches 0,1 % Ammoncarbonat enthielt, war in dem zunächst blau werdenden Zellsaft die Entfärbung in $^3/_4$ Stunden so weit fortgeschritten, als während 3 bis 4 Stunden in dem sauren Zellsaft. Das gleiche Resultat wurde auch erreicht, als die Objecte zunächst während $^1/_2$ Stunde in 0,1 proc. Ammoncarbonat und dann in neutrales Wasserstoffdioxyd gebracht wurden.

Da diese Zellen keine Protoplasmaströmung besitzen, so konnte nur constatirt werden, dass die entfärbten Zellen dem Ansehen und der Plamolyse nach lebend waren.

Phlox paniculata L.

Die Kelchzipfel dieser Gartenform enthielten schön purpurrothen Zellsaft in den chlorophyllführenden Zellen. Diese wurden durch 5 proc. Wasserstoffsuperoxyd schnell entfärbt, bei beginnender Einwirkung wurde aber der Zellsaft zunächst, in ähnlicher Weise wie durch Spuren von Säuren, mehr feuerroth. In diesem Falle wird also durch Wasserstoffsuperoxyd, vermuthlich durch irgend welche anderweitige Oxydationsvorgänge in der Zelle, etwas Säure gebildet.

Weitere Beispiele für positiven oder negativen Erfolg in farbigen Zellen sind früher (p. 386) angeführt. Aus diesen ist zu entnehmen, dass viel häufiger Nichtentfärbung für rothe, als für blaue Zellsäfte gefunden wurde. Doch würden nur weitere Versuche entscheiden können, ob allgemeiner saure Reaction im Zellsaft die Oxydationswirkung des Wasserstoffsuperoxydes erschwert (vgl. auch Cap. 3). Es sei deshalb auch nur nebenbei erwähnt, dass bei Verbena hybrida der feuerrothe Zellsaft in der Corolle durch Wasserstoffsuperoxyd nicht entfärbt wird, während der dunkelrothe Zellsaft in den am Schlund der Blumenkrone befindlichen Haaren ziemlich leicht entfärbt wird. Ebenso theile ich nur die Thatsache mit, dass in den rothen Drüsenhaaren von Drosera intermedia Wasserstoffsuperoxyd eine Ausscheidung im Zellsaft, wie Ammoncarbonat und verschiedene Stoffe, indess keine auffällige Entfärbung erzielt.

Farbstoffkörper.

In den beschränkten Versuchen konnte ich durch Wasserstoffsuperoxyd keine Farbenänderungen in Chromatophoren wahrnehmen. Dieses Resultat wurde erhalten mit den gelben, resp. rothen Farbstoffkörpern der Corolle von Tropaeolum majus L., resp. Aloe verrucosa L., ferner mit den Chlorophyllkörpern von Funaria hygrometrica, Mnium undulatum, Elodea canadensis, Nitella spec., Spirogyra, Zygnema.

Monotropa hypopitys L.

Diese Pflanze bietet Interesse, weil sie sich mit dem Tode an der Luft sehr schnell dunkel färbt, während durch Wasserstoffsuperoxyd keine oder doch geringe Färbung erreichbar war. Ich operirte mit den schuppenförmigen Stengelblättern, welche theilweise intact, theilweise in dünnen Schnitten mit 1, 3, 10 und 20 proc. Wasserstoffdioxyd behandelt wurden. So lange die Zellen plasmolysirbar waren, erzielte ich aber entweder gar keine oder doch nur eine leichte bräunliche Färbung im Zellsaft einiger oder auch vieler Zellen. Dieses zeigt aber, dass Wasserstoffsuperoxyd thatsächlich in den Zellsaft gelangte und nicht etwa in mangelndem Eindringen die Ursache des negativen Erfolges zu suchen ist. An Schnitten dringt übrigens Wasserstoffsuperoxyd ziemlich leicht ein. Denn schon verdünnte

Lösungen dieses Reagens erzielten schnell die genannten Färbungen, welche durch concentrirtes Wasserstoffdioxyd nicht gesteigert werden. Schon nach diesen Thatsachen ist ausgeschlossen, dass die Färbung unterbleibt, weil Wasserstoffdioxyd das Chromogen zu farblosen Producten umändert. Uebrigens schwärzen sich auch die mit Wasserstoffsuperoxyd behandelten Schnitte beim langsamen Tödten durch Chloroform.

Bringt man die Blätter in Chloroformdampf, so werden die getödteten Blätter im Laufe von 2 bis 4 Stunden, vermöge der Oxydation durch passiven Sauerstoff, sehr dunkel gefärbt.

Indem ich nun in Folgendem noch die Pflanzen anführe, welche mit negativem Erfolg geprüft wurden, bemerke ich nochmals, dass diese Versuche in der Absicht angestellt wurden, brauchbare Indicatorpflanzen zu finden. Dieserhalb ist weder auf geringfügige Farbenreactionen geachtet, noch auch versucht, ob bei längerer Dauer oder sonst modificirter Einwirkung eine merkliche Reaction durch Wasserstoffsuperoxyd zu erhalten ist. Ausserdem können sich ja benachbarte Zellen verschieden verhalten. Aus allen diesen Gründen werden weitere Untersuchungen in manchen der genannten Pflanzen voraussichtlich wahrnehmbare Reactionen durch Wasserstoffsuperoxyd erkennen lassen.

Mit negativem Resultat wurden geprüft: die Keimwurzeln von Ervum ervilia L., Pisum sativum L., Phaseolus vulgaris L., Polygonum fagopyrum L., Euphorbia peplus L., Mirabilis Jalappa L., Helianthus annuus L., Brassica napus L., Ricinus communis L.

Stengel der Freilandpflanzen von: Convolvulus tricolor L., Myosotis palustris L., Cynoglossum officinale L., Potamogeton natans L., Verbascum thapsiforme Schrd., Melilotus macorrhiza D.C., Lupinus mutabilis L., Genista tinctoria L., Momordica elaterium L., Salix spec. (Gerbsäureblasen).

Stengel und Blätter von: Juglans regia L., Hypericum perforatum L., Elodea canadensis Rich., Potamogeton pusillus L.

Blätter von Sagittaria sagittaefolia L. (Epidermis der Schwimmblätter) und Rhizomschuppen von Sparganium natans L.

Wurzeln von Lemna minor L., Azolla filiculoides; ferner der Zuckerrübe und der rothen Rübe.

Knollen von Georgina variabilis W.[1]), Kartoffel, Zwiebelschuppen von Allium cepa L.

Schötchen von Isatis tinctoria L.

Staubfadenhaare von Centaurea jacea L., Schirm- und Drüsenhaare von Pinguicula vulgaris L.

Blätter von Mnium undulatum Hedw., Funaria hygrometrica Hedw., Scapania nemorosa N. ab E. (Oelkörper). Rhizoiden von Chara fragilis Desv.; Blätter von Nitella spec. Von Algen ferner: Spirogyra communis Ktz. und eine dickfädige Art; Zygnema spec., Mesocarpus spec., Hydrodictyon utriculatum Roth. — Mycel und Conidienträger von Penicillium glaucum, Bierhefe, Bacterium termo. Von Infusorien Chilomonas paramecium, Coleps hirtus, Vorticella spec.

III. Bemerkungen über die Oxydationswirkungen des Wasserstoffsuperoxyds.

Die beschriebenen Reactionen können natürlich benutzt werden, um das Eindringen des Wasserstoffsuperoxyds in lebende Zellen nachzuweisen, ohne dass näheres über Qualität des oxydablen und oxydirten Stoffes, sowie über die Bedingungen und Modalitäten der Reaction bekannt ist. In solcher Lage befinden wir uns thatsächlich und so sollen die folgenden Betrachtungen auch nur dazu dienen, um darzulegen, dass verschiedene Verhältnisse für das richtige Verständniss dieser Oxydationsvorgänge in der lebenden Zelle sorgfältig in Betracht zu ziehen sind. Eine tiefere Einsicht in die Oxydationsprocesse dürfte aber wohl erst durch entsprechende Studien an denjenigen isolirten Körpern zu gewinnen sein, welche uns hier als physiologische Reagentien dienen.

In jedem Falle handelt es sich in unseren Versuchen mit Wasserstoffsuperoxyd um Oxydationsvorgänge in lebenden Zellen, welche in diesen der passive Sauerstoff nicht zu vollbringen vermag, der thatsächlich, wie später noch zu zeigen ist, in reichlicher Menge sich in dem Zellsaft befinden kann. Mit dem Tode freilich fallen manche der

1) Durch die Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd wird in der lebenden Zelle keine Ausscheidung von Inulin veranlasst.

Körper der Oxydation mit passivem Sauerstoff anheim, welche während des Lebens diesem nicht zugänglich waren und die Dunkelfärbung der todten Pflanzen, sowie der ausgepressten Säfte von Faba, Monotropa u. a. sind unmittelbar Zeugnisse für solche Oxydation. Diese wird aber erst ermöglicht, indem mit dem Tode zuvor räumlich getrennte Stoffe gemischt werden und so auch die Chromogene mit Körpern oder Stoffgemischen in Berührung kommen, durch deren Vermittlung sie der neutrale Sauerstoff zu oxydiren vermag. Wir werden auf diese Verhältnisse noch zu sprechen kommen (Cap. VIII), um eben zu zeigen, wie, trotz der Präsenz des neutralen Sauerstoffs im Zellsaft lebender Zellen, solche Chromogene sich erhalten können; hier aber wollte ich eine Thatsache erwähnen, welche in analoger Weise auch für die Wirkungen des Wasserstoffsuperoxyds in Betracht kommt.

Das reine Wasserstoffsuperoxyd wirkt überhaupt, wie schon früher (p. 376) bemerkt, zumeist nur mässig oxydirend, so dass es TRAUBE gar nicht dem activirten Sauerstoff zurechnete, kann aber durch verschiedene Vermittelungen zu einem sehr energischen Oxydationsmittel werden. Sehr schön demonstriren solche Vermittelungen z. B. Stärkekleister mit Jodkali, der durch reines Wasserstoffsuperoxyd nicht, nach Zusatz von einem Minimum eines Eisensalzes aber sofort gebläut wird; ferner neutrale und saure Lösungen von Indigo- oder von Methylenblau, welche bei Gegenwart einer Spur Eisenvitriol[1]) oder Eisenlactat augenblicklich durch Wasserstoffsuperoxyd entfärbt werden, während ohne solchen Zusatz ein sehr grosser Ueberschuss von Wasserstoffsuperoxyd im Dunklen eine Entfärbung erst nach Stunden oder Tagen oder auch gar nicht herbeiführt. Ein ähnliches Verhalten bietet aber offenbar das Chromogen in Faba und der Farbstoff in Tradescantia. Eine Abkochung der Blumenblätter der letztgenannten Pflanze, welche neben dem blauen Farbstoff doch immer noch verschiedene Körper enthält, verhielt sich in neutraler und saurer Lösung ganz ähnlich wie Indigocarmin, d. h. ein grosser Ueberschuss von Wasserstoffdioxyd

1) Da wir hier nur mit der Thatsache zu rechnen haben, ist es ohne Belang, ob die Eisenlösung durch abwechselnde Reduction und Oxydation oder in anderer Weise vermittelnd wirkt. (Vgl. OSTWALD, Bericht. d. chem. Ges. 1888, Referate p. 275 und MEYERHOFFER, ebenda p. 582.) Auch dürften wohl nicht alle Vermittelungen nach derselben Schablone wirken.

vermochte erst nach vielen Stunden zu entfärben, während ein Zusatz von etwas Eisenlactat, so dass die Lösung 0,001 % von diesem Salze enthielt, eine sofortige Entfärbung durch minimale Mengen von Wasserstoffsuperoxyd herbeiführte.

Ferner wird die schwach saure Abkochung der Stengel und Wurzeln der Keimpflanzen von Faba durch Wasserstoffsuperoxyd erst nach längerer Zeit, zuweilen erst nach einigen Stunden, dunkel, während der durch Zerstampfen mit Wasser erhaltene Auszug durch dieses Reagens sich sehr schnell tief färbt. In diesem Falle sind also noch Bedingungen geboten, welche das Wasserstoffsuperoxyd zu energischer Oxydation befähigen, welche aber durch Kochen zerstört werden. Mag es sich hierbei nur um einen einzelnen Stoff, um ein Stoffgemisch, oder noch um irgend welche andere Umstände handeln, so viel ist sicher, dass in Faba und Tradescantia während des Lebens im Zellsaft Verhältnisse geboten sein müssen, welche das Wasserstoffdioxyd zu energischer Oxydation des Chromogens, resp. des Farbstoffs befähigen. Denn nach den erwähnten Thatsachen wäre es sonst nicht möglich, dass in dem schwach sauren Zellsaft von Faba und in dem neutralen Zellsaft der Blumenblätter und Staubfadenhaare von Tradescantia virginica unmittelbar mit dem Eintritt des Wasserstoffsuperoxyds die färbende, resp. entfärbende Oxydation sich vollzöge. Zu diesem Schlusse kommen wir also mit aller Sicherheit, ohne im näheren zu wissen, welcher Art die vermittelnden Bedingungen in diesen Pflanzen sind, und ob in allen Fällen irgend welche Vermittelungen nöthig sind, um in lebenden Zellen sichtbare Oxydationen durch Wasserstoffdioxyd zu ermöglichen.

Unter den für die Oxydation in Betracht kommenden Constellationen ist jedenfalls auch die Reaction des Mediums zu beachten[1]). Denn es ist z. B. für Pyrogallussäure, Gerbsäure u. s. w. bekannt, dass alkalische Beschaffenheit den Eingriff des Sauerstoffmoleküls einleitet oder doch sehr befördert[2]), andererseits giebt es auch mannigfache Oxydationsvorgänge, welche durch Säuren begünstigt werden[3]).

---

1) Ueber die Reaction des Zellsaftes vgl. Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. II, p. 293.

2) Vgl. z. B. Radszizewsky, Annal. d. Chemie 1880, Bd. 203, p. 305; Nencki und Sieber, Journ. f. prakt. Chem. 1882. N. F., Bd. 26, p. 1.

3) Vgl. Ostwald, Bericht. d. chem. Gesellsch. 1888, Referate p. 275.

Für die Abkochung und auch für den ausgepressten Saft von Faba ist ebenfalls zu constatiren, dass neutrale und alkalische Reaction die Oxydation durch passiven Sauerstoff, aber auch in merklicher Weise die Oxydation durch Wasserstoffsuperoxyd begünstigt, während der blaue Farbstoff in der Abkochung der Blumenblätter von Tradescantia in neutraler und saurer Lösung durch passiven Sauerstoff nicht, durch Wasserstoffdioxyd aber anscheinend gleich schnell oxydirt wird.

Nach solchen Erwägungen dürfte wohl auch in den lebenden Zellen die Reaction des Zellsaftes nicht immer dieselbe Bedeutung für Oxydationsvorgänge haben. Mit dieser, nur empirisch zu entscheidenden Frage habe ich mich nicht näher beschäftigt, doch habe ich wenigstens für Coleus bereits (p. 405) die Thatsachen mitgetheilt, nach denen in dem von Haus aus rothen und schwach sauren Zellsaft die Oxydation durch Wasserstoffsuperoxyd viel langsamer von statten geht, als in dem durch Ammoncarbonat gebläuten Zellsaft. In einigen Versuchen mit den Staubfadenhaaren von Tradescantia, in welchen dem Wasserstoffsuperoxyd etwas Essigsäure (1 Tropfen auf 50 ccm) zugesetzt war, schien die Oxydation in dem gerötheten, also sauer gemachten Zellsaft, ebenso schnell abzulaufen, wie in dem neutralen blauen Zellsaft. Ebenso wirkt ja das Wasserstoffsuperoxyd sehr schnell in dem an sich sauren Zellsaft bei Hydrocharis, Atriplex hortense u. a., und es muss fraglich bleiben (vgl. p. 386), ob in vielen Fällen die saure Reaction des Zellsaftes die Oxydation des Farbstoffs durch Wasserstoffsuperoxyd erschwert.

Auch in Faba vollzieht sich die Oxydation durch Wasserstoffsuperoxyd sehr schnell in dem schwach sauren Zellsaft, und da die ungefärbt bleibenden Zellen sich ebenso verhielten, als dem Wasserstoffsuperoxyd 0,1 % Ammoncarbonat hinzugefügt worden war, so kann die saure Reaction nicht Ursache des Ausbleibens der Oxydation in den genannten Zellen sein, die thatsächlich, wie schon mitgetheilt wurde, ein nach dem Tode sich färbendes Chromogen enthalten.

Ist auch die Sachlage nicht wirklich aufgeklärt, so hat doch die für concrete Fälle festgestellte Thatsache, dass Wasserstoffsuperoxyd Chromogene oder Farbstoffe nur bei Präsenz bestimmter Stoffe oder, allgemeiner gesagt, nur unter bestimmten Bedingungen zu oxydiren vermag, für das Verständniss unserer Versuche eine sehr wesentliche

Bedeutung. Denn daraus folgt, dass derselbe Stoff nicht in jedem Falle im Zellsaft oxydabel sein muss, und dass negatives Verhalten noch nicht ausschliesst, dass ein Chromogen oder Farbstoff zugegen ist, welche unter anderen Bedingungen eine Oxydation durch Wasserstoffsuperoxyd erfahren können. Es ist auch zu beachten, dass in den Versuchen mit lebenden Zellen schon eine sehr erschwerte Oxydation zu einem negativen Resultat führen musste, da immer nur sehr geringe Mengen von Wasserstoffsuperoxyd in den Zellsaft gelangten und zudem diese Einwirkung nur auf beschränkte Zeit ausgedehnt wurde.

So ist also auch wohl zu verstehen, dass Monotropa und andere mit dem Tode sich färbende Pflanzen, trotz des Eindringens des Wasserstoffsuperoxyds in den Zellsaft lebender Zellen, nicht reagiren (vgl. p. 406). Ebenso können trotz des positiven oder negativen Verhaltens gegen unser Reagens die blauen und rothen Farbstoffe verschiedener Pflanzen identisch sein, und es ist zwar nicht erwiesen, aber wohl möglich, dass die durch Wasserstoffsuperoxyd nicht färbbaren Zellen von Faba dasselbe Chromogen enthalten, wie die stark sich färbenden Zellen. Die Färbung von Monotropa u. a. Pflanzen nach dem Tode aber sagt nur, dass durch die Mischung der während des Lebens räumlich getrennten Stoffe irgend welche Bedingungen geschaffen werden, welche nunmehr eine Oxydation, durch den passiven Sauerstoff, in solchen Körpern ermöglichen, welche während des Lebens das Sauerstoffmolekül nicht zu spalten vermochten und theilweise auch in der lebenden Zelle nicht durch Wasserstoffsuperoxyd oxydirt werden.

Die Aufhellung dieser Vorgänge dürfte aber in vieler Hinsicht von Bedeutung werden, z. B. um Rückschlüsse auf die Vertheilung von Stoffen und auf mancherlei andere Verhältnisse in der lebenden Zelle ziehen zu können. Durch künstliche Einführung bestimmter Körper in die lebende Zelle und überhaupt durch Herstellung bestimmter Versuchsbedingungen werden sich sicherlich mancherlei Aufschlüsse in der angedeuteten Richtung gewinnen lassen.

Ein allseitiges Eindringen in die angeregten Fragen dürfte erst durch das Studium der Oxydationsvorgänge unter verschiedenen Bedingungen an den rein dargestellten Farbstoffen oder Chromogenen zu erwarten sein. In dieser Hinsicht fehlen aber die Thatsachen für

die Farbstoffe, und die Chromogene in den von uns mit positivem Erfolg benutzten Pflanzen sind chemisch unbekannt. Bei solcher Sachlage können wir auch die Frage auf sich beruhen lassen, ob alle blauen oder rothen Zellsäfte denselben Farbstoff enthalten, und ob alle Farbstoffe der Blüthen und Früchte, wie Hansen[1]) annimmt, nur Derivate eines Farbstoffes sind, welcher der Gruppe der Gerbstoffe zugehört.

Die oxydablen Chromogene sind wohl nicht in allen Pflanzen identisch und vielleicht finden sich gelegentlich auch zwei oxydable Körper in einer Zelle vereint, wie es, wenigstens in der Vereinigung von Chromogen und Farbstoff, in den rothen Zellen von Hydrocharis morsus ranae der Fall ist (p. 404). Für Verschiedenheit der Chromogene in den Drüsenköpfchen von Momordica elaterium und in Faba spricht z. B. die ungleiche Färbung des Oxydationsproductes, und voraussichtlich sind auch diejenigen Stoffe z. B. in Monotropa, Kartoffel, Georgina, Runkelrübe verschieden, welche nach dem Tode durch den passiven Sauerstoff farbige Producte liefern. Von diesen hat Reinke[2]) das Chromogen der Runkelrübe einigermassen isolirt und Rhodogen, den daraus durch Oxydation entstehenden Farbstoff Betaroth genannt.

Ob die Chromogene chemisch verwandte Körper sind oder nicht, wird sich erst nach Kenntniss ihrer chemischen Qualität sagen lassen. Wenigstens der Gruppe der mit Kaliumbichromat und Eisen reagirenden Gerbstoffe gehören nicht alle Chromogene an, da sich diese Gerbstoffe, wie schon erwähnt[3]), in den Wurzelhaaren von Trianea bogotensis nur in einer minimalen Menge finden, welche gegenüber der Masse des farbigen Oxydationsproductes nicht in Betracht kommt. Und wenn in Faba Gerbstoff in den sich färbenden Zellen vorhanden

1) Die Farbstoffe der Blüthen u. Früchte 1884, p. 12.

2) Zeitschrift f. physiol. Chemie 1882, Bd. 6, p. 269. In dieser Abhandlung finden sich auch einige Bemerkungen über die Chromogene in der Kartoffel, in Georgina und in Aethalium septicum.

3) Vgl. S. 402. Hier sind auch Beobachtungen mitgetheilt, nach denen der oxydable Körper in den Wurzelhaaren verschieden ist von dem, welcher Methylenblau speichert. Der gleichfalls Methylenblau speichernde Körper in der Wurzel von Lemna und in Zygnema ist durch Wasserstoffhyperoxyd in den lebenden Zellen nicht oxydabel.

ist, so folgt daraus noch nicht, dass diesem auch der mit Wasserstoffsuperoxyd oxydable Körper zugehört.

Jedenfalls bedingt Gerbstoffgehalt nicht allgemein Färbungsfähigkeit durch Wasserstoffsuperoxyd. Denn dieses erzielt z. B. keine Färbung in den Gerbsäureblasen von Salix spec., von Zygnema und Mesocarpus und in dem sehr reichlich Gerbstoff führenden Zellsaft von Spirogyra, der Wurzel von Azolla filiculoides und von Euphorbia peplus[1]). Auch wird Tannin keineswegs leicht durch Wasserstoffdioxyd oxydirt. Dieses bewirkte in neutraler und schwach sauren Lösungen des Galläpfelgerbstoffs bei grossem Ueberschuss selbst nach 24 Stunden keine oder doch nur höchst unbedeutende Färbung. Wenn gleiches negatives Resultat auch bei Zufügung von etwas ausgepresstem Saft von Momordica elaterium erreicht wurde, so ist damit wieder nicht ausgeschlossen, dass unter anderen Bedingungen dieser oder ein anderer Gerbstoff farbige Producte liefert. Thatsächlich wird ja Tannin langsam in neutraler, und schneller in alkalischer Lösung, schon durch den passiven Sauerstoff oxydirt, und wenn durch solche Vorgänge wohl mehrfach die Färbung todter Pflanzentheile veranlasst sein mag[2]), so folgt daraus nicht die Nothwendigkeit, dass auch Wasserstoffsuperoxyd den Gerbstoff in der lebenden Zelle oxydirt. Ueberhaupt ist nicht zu vergessen, dass der Eingriff dieses Reagens im Leben recht wohl andere Stoffe treffen und andere Producte liefern kann, als die erst mit dem Tode eintretende Oxydation durch passiven Sauerstoff. Auch für Faba kann nur empirisch entschieden werden, ob die Schwärzung nach dem Tode von denselben Stoffen herrührt, welche Wasserstoffsuperoxyd in einem Theile der lebenden Zelle zu farbigen Producten umwandelt.

Wie die Chromogene sind auch die unbekannten farbigen Oxydationsproducte sicherlich recht verschieden, denn es ist eine Eigenschaft vieler Stoffe farbige Producte zu liefern, wie die häufige Färbung von Pflanzentheilen nach dem Tode und die späteren Verwesungsproducte zeigen. Ueber diese heterogenen Dinge, die als Phlobaphene und Huminsubstanzen zusammengefasst werden, fehlt eine nähere

---

1) Vgl. Ueber den Gerbstoffgehalt. Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. II, p. 242 ff.

2) Vgl. G. Kraus, Physiologie d. Gerbstoffs. 1889, p. 30.

chemische Kenntniss noch ganz[1]). Zu dieser Kategorie kann man bis auf weitere Aufhellung, wenn man will, vorläufig auch unsere farbigen Oxydationsproducte rechnen, und zu jener unbestimmten Gesellschaft von Körpern zählen auch solche, die schneller oder langsamer, sowie die Oxydationsproducte in Faba und ebenso die Ammoncarbonatfällung des Gerbstoffs (vgl. p. 381), sich in relativ unlösliche Stoffe verwandeln.

Abgesehen davon, dass Wasserstoffsuperoxyd vermuthlich an Stelle des neutralen Sauerstoffs im Athmungsprocess treten kann, wird dieses Reagens sicherlich auch noch andere Wirkungen in der lebenden Zelle erzielen, welche nicht durch eine Farbenänderung sich zu erkennen geben. Solche Vorgänge, die nicht in Oxydationen von Farbstoffen oder Chromogenen bestehen, werden wohl weitere Studien durch irgend welche directe oder indirecte Reactionen zu erkennen lehren. Auf eine ganz schwache Säureproduction durch die Oxydation deutet die mitgetheilte (p. 405) Farbenänderung im rothen Zellsaft der Kelchzipfel von Phlox paniculata hin. In den anderen Versuchspflanzen wurde keine auffällige Aenderung in der neutralen oder sauren Reaction der Zellsäfte wahrgenommen. Ist es auch wohl möglich, dass weiterhin andere Resultate aufgefunden werden, so darf man doch aus der Oxydationsfähigkeit der Oxalsäure und auch einiger anderer Säuren noch nicht darauf schliessen, dass Wasserstoffsuperoxyd in den lebenden Zellen diese Säuren oxydiren muss. Denn einmal finden sich diese Säuren im Zellsaft voraussichtlich gewöhnlich als Salze, und dann dürften die Versuche Wurster's[2]) über Oxydationen organischer Säuren mit Wasserstoffsuperoxyd vorgenommen sein, welches gegenüber den sehr kleinen Mengen, die in den Zellsaft der lebenden Zelle gelangen, sehr concentrirt war.

Die Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf andere in der lebenden Pflanzenzelle vorkommende oxydable Stoffe, wie ätherische Oele, Campher u. s. w. wurde nicht untersucht. Beiläufig sei noch erwähnt, dass in den mit dem Tode sich schön bläuenden Früchten

1) Vgl. Husemann, Die Pflanzenstoffe. 1882, II. Aufl., Bd. 1, p. 261; Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chemie 1889, Bd. 13, p. 66.

2) Centralblatt f. Physiologie 1887, I, p. 34. — Ueber ungleiche Oxydationsfähigkeit organischer Säuren vgl. auch Salzer, Ber. d. chem. Ges. 1888, p. 1910.

von Isatis tinctoria durch Wasserstoffsuperoxyd keine Indigobildung hervorgerufen wurde. Vermuthlich wird aus naheliegenden Gründen ein negatives Resultat sich ebenso in anderen Fällen ergeben, in denen die Umsetzung von fermentativen und enzymatischen Processen abhängt.

IV. Versuche mit Cyanin.

In vieler Hinsicht würde es werthvoll sein, an künstlich eingeführten und ihrer Qualität nach bekannten Farbstoffen die Wirkungen des Wasserstoffsuperoxyds in der lebenden Zelle verfolgen zu können[1]). Zweifellos werden ausgedehntere Versuche noch mehrfach von Erfolg gekrönt sein, doch habe ich bis dahin nur Cyanin als wirklich brauchbares Reagens für unsere Zwecke kennen gelernt, das ganz besonders werthvoll dadurch wird, dass es im Protoplasmakörper selbst durch Wasserstoffsuperoxyd oxydirt wird.

Die Färbung des Protoplasmas durch Cyanin habe ich früher beschrieben[2]). Wie damals stellte ich mir auch jetzt durch Erwärmen des Cyanins mit Wasser eine blaue Lösung dar, die ohne nähere Kenntniss des Gehaltes, immer in mässiger Färbung und nöthigenfalls in sehr weit gehender Verdünnung zur Anwendung kam.

Als Versuchsobject dienten wiederum die Wurzelhaare von Trianea bogotensis, deren Protoplasma nach 3—15 Minuten langem Einlegen in mässig gefärbte Cyaninlösung schön himmelblau gefärbt wird, während im Zellsaft nur Spuren sich endlich bläuender Körnchen auftreten, da Cyanin in den Zellsaft dieser Wurzelhaare nicht erheblich, wie es für Methylenblau und Methylviolett zutrifft, gespeichert wird. Die hauptsächlichst sich färbenden Theile des Protoplasmas sind die Mikrosomen und differenzirte Plasmapartien, für welche ich früher[3]) die vorläufige Bezeichnung grana benutzte.

Das blaugefärbte Protoplasma der Wurzelhaare änderte seine Färbung im Laufe 1 Stunde nur wenig, wurde aber nach 4 Stunden

1) Es ist dieses ein weiteres Beispiel, wie mannigfacher Verwendung für physiologische Zwecke die Aufnahme von Farbstoffen in lebende Zellen fähig ist. Vgl. hierüber Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen, Bd. II, p. 324.

2) L. c. p. 259.

3) L. c. p. 252, 259.

blasser, war indess noch nach 24 Stunden schwach aber deutlich gefärbt. So wenigstens fielen die Versuche in Dunkelheit und in sehr gedämpftem Lichte aus, während stärkere Beleuchtung schnelleres Abblassen bewirkte.

Durch die oxydirende Wirkung des Wasserstoffdioxyds wird aber sehr schnell eine gänzliche Entfärbung des Protoplasmas herbeigeführt. Unter Deckglas wurde beim Durchsaugen einer 0,01 proc. Lösung unseres Reagens nach $^1/_2$ Minute beginnende und nach 1 bis 3 Minuten totale Entfärbung beobachtet, und bei Verwendung von 0,1 proc. Wasserstoffsuperoxyd war zuweilen die Entfärbung in weniger als 1 Minute vollendet.

Besonders bei Verwendung von 0,01 proc. Wasserstoffsuperoxyd trat öfters deutlich hervor, dass sich zunächst die dem Wasserstoffsuperoxyd am leichtesten zugänglichen Partien des Protoplasmas entfärbten, d. h. der Wandbelag des frei hervorstehenden Theiles des Wurzelhaares. Die jetzt noch blauen Plasmastränge, welche den Zellsaft durchquerten und ebenso die blauen Protoplasmamassen in der eingesenkten Basis des Haares, entfärbten sich dann allmählich, während sie durch die Strömung in die Wandschicht geführt wurden.

Die Oxydationsfärbung im Zellsaft der Wurzelhaare von Trianea beginnt entweder erst nach der Entfärbung des Cyanins oder bevor diese vollendet ist. Letzteres war die Regel bei Anwendung von 0,1 proc. Wasserstoffsuperoxyd, während ersteres öfters bei 0,01 proc. Reagens zutraf. Bei concentrirterer Lösung gelangt eben das schneller eindringende Wasserstoffsuperoxyd durch dünne Wandschichten des Plasmas bis zum Zellsaft, bevor die derzeit im Grunde des Haares befindlichen blauen Plasmamassen entfärbt sind, und es ist wohl möglich, dass bei stürmischerem Vordringen ein Theil des Reagens selbst blaue Plasmaschichten durcheilen kann. Denn, wenn die Entfärbung in diesen thatsächlich, wie die mitgetheilten Erfahrungen zeigen, sehr schnell von statten geht, so braucht die Reaction dieserhalb doch nicht so augenblicklich einzutreten, dass nicht bei reichlicherem Wasserstoffsuperoxyd ein Theil dieses sogleich bis zum Zellsaft enteilt. Dieses kommt weniger leicht bei langsamem Eindringen vor, indem so das Wasserstoffsuperoxyd Gelegenheit findet, zunächst in dem Protoplasma, auch in dem aus dem Grunde des Haares nachrückenden, die Oxydation des Cyanins zu vollbringen, bevor erhebliche Mengen von

Wasserstoffsuperoxyd bis in den Zellsaft gelangen. Thatsächlich muss so die Oxydation des Cyanins das Vordringen des Wasserstoffsuperoxyds bis zum Zellsaft ein wenig verzögern, doch ist die Menge des Cyanins im Protoplasma so gering, dass eine auffällige Verzögerung gar nicht erwartet werden kann. Der geringen von Protoplasma gebundenen Farbstoffmenge halber gelangt ja auch Methylviolett, trotz ansehnlicher Tingirung des Protoplasmas, sehr schnell bis in den Zellsaft der Wurzelhaare von Trianea[1]).

Nach der Entfärbung kehrt, auch nach sofortigem Auswaschen des Wasserstoffdioxyds, die Färbung des Protoplasmas nie wieder, während die Färbungsfähigkeit verbleibt, denn unmittelbar nach der Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds kann man, bei Verwendung einer nicht zu verdünnten Cyaninlösung, schon nach $^1/_2$ Minute beginnende Bläuung des Protoplasmas constatiren. Es handelt sich also um dauernde Beseitigung des Cyanins ohne Beeinträchtigung der speichernden Stoffe, und dass diese Entfärbung durch Oxydation, nicht etwa durch Exosmose oder durch Ansäuerung zu Stande kommt, lehren die folgenden Erwägungen.

Durch Säure wird bekanntlich Cyanin entfärbt, durch Neutralisation aber wieder seine blaue Farbe hergestellt. Abgesehen davon, dass eine Säurebildung im Protoplasma durch Wasserstoffsuperoxydwirkung nicht wahrscheinlich ist, lässt sich direct zeigen, dass nicht Säure die Ursache der fraglichen Entfärbung des Cyanins ist. Denn diese geht ebenso von statten, wenn dem 0,01 proc. Wasserstoffsuperoxyd 0,1 oder 1 % Ammoncarbonat zugesetzt ist, welches nachweislich schnell seinen Weg in das Protoplasma der Wurzelhaare von Trianea findet.

Cyanin wird aber thatsächlich durch Wasserstoffsuperoxyd, und wie wir noch hören werden, je nach Umständen sehr schnell zu einem farblosen Körper oxydirt. Ferner hat Wasserstoffsuperoxyd keinen beschleunigenden Einfluss auf die Entfärbung des durch Methylviolett oder Safranin gefärbten Protoplasmas der Wurzelhaare von Trianea. Wenn aber unser Reagens eine Exosmose dieser der Oxydation widerstehenden Farbstoffe nicht zu veranlassen vermag, so ist um so weniger irgend Veranlassung, eine derartige Wirkung

1) Pfeffer, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen II, p. 250.

bezüglich des Cyanins anzunehmen, als die directe Beobachtung, besonders an dickeren Plasmalagen zeigt, dass das Verschwinden des Cyanins in dem Maasse des Eindringens des Wasserstoffsuperoxyds in solcher Weise geschieht, dass nur eine Entfärbung an Ort und Stelle, also eine Oxydation möglich ist.

Das erst nach Stunden merklich werdende und erst nach langer Zeit vollendete Verschwinden des Cyanins aus dem Protoplasma der Wurzelhaare von Trianea hat keine Bedeutung für die Reaction mit Wasserstoffsuperoxyd, welche nur Minuten erfordert. Eine solche allmähliche Entfärbung erfährt auch das mit Methylviolett gefärbte Protoplasma, und zwar indem der Farbstoff allmählich exosmirt und in dem Zellsaft gespeichert wird[1]). In gleicher Weise wird aber auch das Cyanin diosmotisch entfernt. Denn färbt man das Protoplasma in den Wurzelhaaren von Trianea durch kürzere Einwirkung von verdünnter Cyaninlösung nur mässig blau, und wäscht dann sorgfältigst ab, so fehlen zunächst, auch nach Einwirkung von 0,2 proc. Ammoncarbonat, in dem Zellsaft blaue Körnchen[2]), welche in kleiner Zahl nach der Entfärbung des Protoplasmas vorhanden sind, und so den Austritt des unveränderten Farbstoffs aus dem Protoplasma beweisen.

Dabei habe ich nur Versuche im Dunkeln im Auge, denn in directem oder hellem diffusem Sonnenlicht wird die wässrige Lösung von Cyanin und ebenso das mit diesem gefärbte Protoplasma in Trianea ziemlich schnell entfärbt. Diese Uebereinstimmung ist nur ein weiterer Beweis, dass das lebensthätige Protoplasma keine oxydirende Wirkung gegen das leicht verbrennliche Cyanin ausübt, welches bei Beleuchtung schon durch den passiven Sauerstoff oxydirt wird[3]).

Unter Erwägung, dass im Dunkeln das Cyanin so langsam und offenbar nur durch Exosmose schwindet, kann man mit Sicherheit auf das Fehlen von Wasserstoffsuperoxyd und ebenso von anderem noch wirksamen activirten Sauerstoff in dem normal lebensthätigen und athmenden Protoplasma schliessen. Denn würden auch in jedem Augenblick nur sehr kleine Mengen von activirtem Sauerstoff entstehen, so müssten diese doch die ungemein geringe Quantität des

---

1) Pfeffer, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. II, p. 250.
2) Ebenda, p. 260.
3) Vgl. auch Schönbein, Zeitschrift f. Chemie 1865, Bd. 8, p. 734.

gespeicherten Cyanins sehr bald entfärben[1]), während thatsächlich eine ganz schwache Anfärbung des Protoplasmas unserer Wurzelhaare noch nach 24 Stunden bemerklich ist, weil, entsprechend der exosmotischen Entfernung, die Entziehung des Cyanins mit Abnahme der im Protoplasma gespeicherten Farbstoffmenge sich verlangsamt.

Solche directe Beobachtungen stellte ich nur mit dem Protoplasma der Wurzelhaare von Trianea an, welche Cyanin besonders schön speichern, doch führen auch andere Versuche zu demselben Schlusse, dass Cyanin nicht durch das lebensthätige Protoplasma oxydirt wird. Es folgt dieses aus verschiedenen Versuchen, in welchen Spirogyra communis in 800 ccm einer sehr verdünnten, farblos erscheinenden Lösung von Cyanin gebracht wurde, der, um sie jedenfalls neutral zu erhalten, 0,05 % Natriumdicarbonat hinzugefügt war. Bei Aufenthalt im Dunkeln waren, je nach der Verdünnung, erst nach 24 oder auch erst nach 48 und 72 Stunden Spuren der Cyaninspeicherung im Zellsaft zu erkennen, die nach Einwirkung von etwas Ammoncarbonat noch besser hervortrat, da durch dieses die Körnchen des gerbsauren Cyanins stärker gebläut wurden[2]). Wurde auch die Verdünnung nicht näher bestimmt, so dürften doch nach annähernder Controle sicher weniger als 1 Theil Cyanin in 100 Millionen Theilen der verdünntesten Lösungen enthalten gewesen sein. Jedenfalls gelangten also in jedem Augenblick nur verschwindend geringe Mengen des Farbstoffs in das Protoplasma, und bei irgend merklicher Oxydationswirkung dieses auf das Cyanin wären diese Spuren dauernd durch Oxydation entfärbt worden und Farbstoff hätte nicht unverändert in den Zellsaft gelangen können.

Durch directe Versuche mit dem durch Wasserstoffsuperoxyd entfärbten Cyanin überzeugte ich mich, dass auch bei ansehnlicherer Menge des Oxydationsproductes der Zellsaft der genannten Pflanzen keine blauen Körnchen enthielt, dass also die Pflanze zu einer Wiederbildung des Cyanins nicht befähigt ist. In diesen Versuchen war, beiläufig bemerkt, die concentrirte Lösung des Cyanins mit thun-

1) Selbst wenn man, entgegen den obigen beweisenden Argumenten, eine Exosmose des Cyanins als Ursache der Entfärbung durch Wasserstoffsuperoxyd annehmen wollte, würde doch ebenso das Ausbleiben der Entfärbung gegen die Existenz des Wasserstoffsuperoxyds im Protoplasma zeugen.

2) Vgl. Pfeffer, l. c. p. 260.

lichster Vermeidung eines Ueberschusses durch Wasserstoffsuperoxyd oxydirt, dann durch Aufkochen der etwaige Ueberschuss möglichst zerstört und dann erst die Verdünnung mit Wasser vorgenommen worden. Das Ausbleiben einer Zellsaftfärbung in den Wurzelhaaren von Trianea zeigte, dass wirksame Mengen von Wasserstoffsuperoxyd fehlten und dass auch in dieser Pflanze keine Reduction des Oxydationsproductes stattfindet.

Ferner lässt sich aus Versuchen mit Penicillium glaucum entnehmen, dass auch dieser Schimmelpilz in dem lebensthätigen Protoplasma Cyanin nicht oxydirt. Diese Experimente finden aber vortheilhafter erst weiterhin (Cap. 10) Besprechung und so sei hier nur angedeutet, dass in ihnen Culturen von Penicillium auf verdünnte Cyaninlösung kamen, die natürlich hätte entfärbt werden müssen, wenn der in das Protoplasma eindringende Farbstoff in diesem eine Oxydation erführe.

Wichtig ist der directe Nachweis der überaus schnellen entfärbenden Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf das im lebenden Protoplasma aufgespeicherte Cyanin, denn dieses wird in unlöslichen Vereinigungen theilweise nur schwer oxydirt. Ja es müssen in dem Protoplasma sogar vermittelnde Bedingungen für die Oxydation in dem früher gekennzeichneten Sinne bestehen, da das von mir benutzte Cyanin durch Wasserstoffsuperoxyd zwar in neutraler und alkalischer Lösung in ungefähr 2 bis 5 Minuten, augenblicklich aber erst nach Zusatz einer Spur von Eisensalz entfärbt wurde. Dieser ausgezeichneten Reaction halber empfahl auch Schönbein[1]) das Cyanin als eines der empfindlichsten Reagentien für Ozon und für Wasserstoffsuperoxyd. Und wenn letzteres nach Schönbein auf Cyanin erst nach Eisenzusatz oxydirend wirkt, so liegt darin kein Widerspruch gegen meinen Befund, da die Handelswaare keineswegs immer dasselbe Salz und auch nicht immer frei von kleinen Beimengungen ist, welche wirksam eingreifen können.

Wie schwer aber Cyanin in gewissen Vereinigungen oxydabel ist, das lehren z. B. die in Spirogyra communis entstandenen Körnchen von gerbsaurem Cyanin, welche nöthigenfalls durch etwas

1) Zeitschrift f. Chemie 1865, Bd. 8, p. 734. Auch Journal f. prakt. Chemie Bd. 96, p. 385, 449.

Ammoncarbonat zunächst schön gebläut werden können. Diese behaupteten nämlich, auch nach dem Tode der Zelle, während einiger Stunden in 5 proc. Wasserstoffsuperoxyd eine blaue Farbe und ähnlich verhielten sich die blauen Flocken, welche aus in Wasser vertheiltem und dann mit Cyanin versetztem Hühnereiweiss sich absetzten. Uebrigens bedarf es auch schon erheblicher oder andauernder Säurewirkung, um hierdurch das sonst so fein reagirende Cyanin in der genannten Gerbsäureverbindung zu entfärben[1]). Analog vermag auch Wasserstoffsuperoxyd nur schwierig den sonst so leicht entfärbbaren blauen Farbstoff zu oxydiren, welcher in den Staubfadenhaaren von Tradescantia mit niedergerissen wird, wenn noch vor beendigter Entfärbung eine Ausscheidung im Zellsaft eintritt (vgl. p. 384).

Auf Grund dieser Erfahrungen und durch weitere Studien könnte es wohl auch einmal gelingen, bestimmtere Anhaltspunkte für die Art und die Ursache der Speicherung des Cyanins im Protoplasma zu gewinnen. Jedenfalls ist Cyanin in diesem, wie die allmähliche Entfernung durch Exosmose lehrt, weniger fest gebunden, als in der gerbsauren Verbindung im Zellsaft, den es ohne besondere Eingriffe nicht wieder verlässt.

V. Versuche mit einigen anderen Farbstoffen.

Mit anderen Farbstoffen wurden zwar keine brauchbaren Oxydationserfolge erreicht, doch ist eine kurze Mittheilung der negativen Resultate geboten.

Methylenblau.

Dieser Farbstoff wird bei Gegenwart von ein wenig Eisensalz in neutraler und alkalischer Lösung sehr schnell und leicht durch Wasserstoffsuperoxyd entfärbt, während ohne solchen Eisenzusatz, oder auch nach Hinzufügen des ausgepressten Saftes von Momordica elaterium, die Oxydation gar nicht oder jedenfalls sehr langsam eintritt. Bei solchem Verhalten ist es wohl möglich, dass in bestimmten Fällen das in lebenden Zellen gespeicherte Methylenblau

---

1) Pfeffer, l. c. p. 260.

durch Wasserstoffsuperoxyd oxydirt werden kann, doch haben die bisherigen Versuche negative Resultate ergeben.

So konnte ich bei geringer und ansehnlicher Speicherung von Methylenblau in den Wurzeln von Lemna minor[1]) durch Wasserstoffsuperoxyd keine Veränderung in den lebenden Zellen finden, mochte ich nun 1- oder 0,1 proc. Lösung kürzere Zeit, oder eine 0,003 proc. Lösung des Reagens während 24 Stunden wirken lassen, und zwar lieferten sowohl die Zellen mit gelöster, als mit krystallinisch ausgeschiedener Methylenblauverbindung dasselbe Resultat. Ebenso fand ich keine Entfärbung durch Wasserstoffsuperoxyd für die in den Zellen von Spirogyra communis und den Wurzelhaaren von Azolla filiculoides[2]) ausgeschiedenen Körnchen von gerbsaurem Methylenblau. Auch bewirkt Wasserstoffsuperoxyd keine Entfärbung der früher (p. 401) erwähnten, durch Methylenblau gefärbten Ausscheidung, welche unser Reagens in Wurzelhaaren von Trianea hervorruft.

Unter diesen Versuchen ist am meisten Werth auf die Experimente mit denjenigen Zellen der Wurzel von Lemna minor zu legen, in welchen das gespeicherte Methylenblau als gelöste Verbindung enthalten war. In diesen Zellen ist also im Zellsaft kein Körper und keine Bedingung geboten, welche, analog wie Eisensalz, die Oxydation des Methylenblaus durch Wasserstoffsuperoxyd herbeiführt. Ebenso kann letzteres den speichernden Körper nicht oxydiren oder zu Säurebildung im Zellsaft Veranlassung geben, denn in beiden Fällen würde unvermeidlich Exosmose des Methylenblaus eintreten, wie des Näheren aus den seiner Zeit von mir nachgewiesenen Bedingungen für Speicherung und Exosmose zu entnehmen ist.

Das farblose Oxydationsproduct des Methylenblaus nimmt beim Stehen an der Luft nicht wieder Färbung an, und als dieses Oxydationsproduct, in der bei Cyanin beschriebenen Weise (p. 420), den Wurzeln von Trianea, Lemna und Azolla geboten wurde, kam ebenfalls blaue Färbung in den Zellen nicht zu Wege.

Anschliessend mögen hier auch einige Versuche mitgetheilt

---

1) Näheres über die Speicherung von Methylenblau vgl. PFEFFER, l. c., p. 213.

2) Ebenda p. 212 und 218. Azolla filiculoides verhält sich ähnlich wie Azolla caroliniana.

werden, welche, in Bestätigung früherer Argumente[1]), zeigen, dass das lebende Protoplasma durch Methylenblau des mangelnden Speicherungsvermögens halber ungefärbt bleibt, nicht aber, weil es in sich aus dem Farbstoff das Leukoproduct des Methylenblaus bildet. Das leicht zu dem blauen Farbstoff oxydirbare Leukomethylenblau kann natürlich im Protoplasma nicht entstehen, wenn in diesem sich gleichzeitig Wasserstoffdioxyd befindet. Beim Zusammengreifen von Wasserstoffsuperoxyd und Methylenblau bleibt indess das Protoplasma der Wurzelhaare von Trianea ebenfalls farblos, während sich allmählich im Zellsaft die Methylenblauspeicherung und die Oxydationsfärbung bemerklich machen.

Ich prüfte folgende Gemische in ihrer Wirkung auf die Wurzelhaare von Trianea, während diese unter dem von dickeren Papierstreifen getragenen Deckglas gehalten wurden: 1) 0,002 % Methylenblau + 0,05 % Wasserstoffsuperoxyd, 2) 0,002 % Methylenblau + 0,01 % Wasserstoffsuperoxyd.

Bei Verwendung von Haaren, deren Zellwand keinen Farbstoff speicherte (nöthigenfalls ist solches durch Zugabe von 0,5 % Salpeter erreichbar) fand sich, wie gesagt, nie eine Blaufärbung in dem normal strömenden Protoplasma. Dass aber gleichzeitig Methylenblau und Wasserstoffsuperoxyd das Protoplasma passirten, zeigte das Auftreten der beiderlei Färbungen im Zellsaft an. Auch ist mit 0,002 % Methylenblau für sich zu constatiren, dass schon nach 2—5 Minuten Färbung im Zellsaft bemerklich wird, und des sofortigen Eindringens des Wasserstoffsuperoxyds in den angewendeten Concentrationen ist früher gedacht worden.

Methylviolett und Safranin.

Für Methylviolett und Safranin, welche das Protoplasma der Wurzelhaare von Trianea violett, resp. roth färben[2]), constatirte ich nur, dass in dem so tingirten lebenden Protoplasma eine Entfärbung durch Wasserstoffsuperoxyd nicht eintritt.

1) Pfeffer, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. II, p. 279. Vgl. auch diese Abhandl. Cap. 13.

2) Vgl. Pfeffer, l. c., p. 247, 266.

Ausserdem stellte ich noch einige Versuche mit Dimethylparaphenylendiamin und Tetramethylparaphenylendiamin an, aus welchen Wurster[1]) Reagenspapiere für den Nachweis von activirtem Sauerstoff herstellte. Ich erhielt indess mit diesen Körpern, welche in Folgendem kurz als Dibase und Tetrabase bezeichnet werden sollen, keine Resultate, welche zu weitern Studien Veranlassung gaben. Beide Basen waren von Dr. Schuchhardt in Görlitz bezogen, wurden für meine Versuche in etwas Citronensäure gelöst und dann, ohne nähere Gehaltsbestimmung, so weit verdünnt, dass die nur schwach saure Flüssigkeit nach längerer Zeit oder gar nicht einen schädlichen Einfluss auf die lebende Zelle der Versuchsobjecte übte. In dieser schädlichen Wirkung scheinen diese Basen etwa zwischen Methylviolett und Methylenblau zu stehen, und dem entsprechend mochte ungefähr der Verdünnungsgrad der angewandten Lösungen sein. Diese Lösungen nahmen durch die Oxydationswirkung des passiven Sauerstoffs sogleich eine gewisse, allmählich noch zunehmende Färbung an und kamen also immer als solche Farbstofflösungen in Anwendung.

Dimethylparaphenylendiamin.

Die in besagter Weise hergestellte Lösung liess ein gewisses Eindringen des Farbstoffs in die Wurzel von Azolla filiculoides, in Spirogyra vulgaris und eine andere dickfädige Spirogyra erkennen. Wenigstens fanden sich in manchen der anscheinend noch lebenden Zellen kleine Mengen rother Körnchen, ähnlich wie bei geringer Fuchsinspeicherung[2]), die augenscheinlich mit der Schädigung der Zelle sich erheblich vermehren können. Es scheint hiernach, dass im Zellsaft der genannten Pflanzen zwar eine Speicherung der Dibase (d. h. des bezüglichen Farbstoffs) möglich ist, diese aber nur schwierig und reichlicher erst dann den Weg zum Zellsaft findet, nachdem durch schädliche Einwirkungen eine grössere Permeabilität der Plasmahaut erreicht ist[3]).

Der fragliche Farbstoff vermag auch dem Protoplasma der Wurzelhaare von Trianea bogotensis ein röthlichbraunes Colorit zu geben,

1) Bericht. d. chem. Gesellsch. 1886, Bd. 19, p. 3195.

2) Pfeffer, l. c. p. 265.

3) Vgl. Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen, Bd. II, p. 303.

das aber immer nur sehr schwach ausfiel und nicht immer sicher wahrnehmbar war. Dieserhalb schon schien die Dibase für Versuche wenig geeignet, und da Versuche mit Wasserstoffsuperoxyd keine Farbenänderung in dem so gefärbten Protoplasma erkennen liessen, so war dieser Farbstoff nicht als Reagens auf activirten Sauerstoff am Protoplasma auszunutzen, während im Cyanin ein für diesen Zweck vortrefflich geeigneter Körper zu Gebote stand. Uebrigens fand ich auch, dass nach Zugabe von Wasserstoffsuperoxyd, im Gegensatz zu dem so schnell reagirenden Cyanin, die Dibase in fast neutraler und ebenso in essigsaurer Lösung, selbst wenn eine Spur Eisenvitriol zugesetzt war, nur langsam die Farbe durch verschiedene Töne ändert.

Auf diese nur zur Orientirung unternommenen Versuche darf natürlich kein Gewicht gelegt werden. Das Mitgetheilte steht aber im Einklang mit den Cyaninversuchen, denn es spricht dafür, dass im lebensthätigen Protoplasma die Dibase nicht energischer oxydirt wird, als durch passiven Sauerstoff. Aus der bleibenden Färbung würde weiter zu entnehmen sein, dass der aus der Dibase entstandene Farbstoff im Protoplasma nicht wieder reducirt wird.

Tetramethylparaphenylendiamin.

Nach Versuchen mit den Wurzelhaaren von Trianea bogotensis dringt diese Base, resp. der in der Lösung entstandene Farbstoff, nicht in das lebende Protoplasma, kann aber nach dem Tode dieses und schon nachdem die innere Plasmahaut (Vacuolenwand) isolirt ist, im Zellsaft gespeichert werden. Versuche mit Spirogyra und Azolla führten zu keinem für Aufnahmefähigkeit sprechenden Resultate.

Indophenolweiss.

Bei Verwendung verdünnter Lösungen (circa 0,001 procentig) wurden in den Wurzelhaaren von Azolla filiculoides und Trianea bogotensis, sowie in Spirogyra communis ähnliche Erfolge beobachtet wie mit Dimethylparaphenylendiamin. Da dieses nach Gad[1]) und Wurster[2])

1) Ueber activen Sauerstoff im thierischen Organismus in Verhandlg. d. Physiolog. Gesellschaft 1887, No. 5.

2) Bericht. d. chem. Gesellschaft 1887, XX, p. 256.

neben einem Chinon leicht durch Spaltung von Indophenolweiss entsteht, so ist ein solches Resultat verständlich. Eine blaue Färbung durch Indophenolblau kam innerhalb der lebenden Zelle nicht zu Stande. Uebrigens verweise ich auf GAD und WURSTER, die dargethan, dass das von EHRLICH zu Versuchen im Thierkörper benutzte Indophenolweiss kein zu Studien über Oxydationsvorgänge geeigneter Körper ist.

Alizarinblau S.

Diese Doppelverbindung von Natriumbisulfid mit Alizarinblau[1]) setzt in wässriger Lösung schon beim Stehen Alizarinblau ab. Dieses fand sich dann auch an den Zellen äusserlich anhängend, nie aber in den lebenden Zellen, als Spirogyra, Azolla, Trianea in sehr verdünnter Lösung dieses Körpers längere Zeit verweilt hatten.

VI. Wirkung von Ozon auf lebende Zellen.

In einer kleinen Reihe von Versuchen mit Ozon erwies sich dieses so giftig, dass der Protoplasmakörper stets todt war, bevor eine merkliche Oxydation im Zellsaft eintrat.

In diesen Versuchen wurde das Ozon durch elektrische Funken in einem tubulirten Glasglöckchen erzeugt. Auf den Tubulus dieses kam ein Deckglas, welches in dem Hängetropfen die Versuchsobjecte enthielt, die demgemäss dem in dem Wasser dieses Tropfens sich auflösenden Ozon ausgesetzt wurden. Diese Glöckchen fassten ungefähr 10 bis 15 ccm, waren etwa 2,5 cm hoch und ebenso breit an der Basis, mit deren abgeschliffenem Rand sie auf den ebenen Objectträger aufgesetzt wurden, während auf den engeren und ebenfalls abgeschliffenen Tubulus das Deckglas zu liegen kam. Die in dem Hängetropfen dieses Deckglases befindlichen Objecte liessen sich also während der Einwirkung des Ozons mikroskopisch beobachten. Zur Erzeugung des Ozons in dem Glasglöckchen waren in die Seitenwand dieses, wie bei Eudiometern, zwei Platindrähte eingeschmolzen, zwischen deren thunlichst genäherten Spitzen schwache elektrische

1) EHRLICH, Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus 1885, p. 21.

Funken mit Hülfe eines Inductionsapparates erzeugt wurden. Schon bei mässig schneller Aufeinanderfolge dieser Funken entstand in 1 bis 3 Minuten genügend Ozon, um feuchtes Jodkalistärkepapier tief zu bläuen.

Kamen in den Hängetropfen Querschnitte der Wurzel von Trianea bogotensis mit ansitzenden Wurzelhaaren, so ergab sich, je nach der Schnelligkeit und Intensität der elektrischen Entladungen, nach 2 bis 20 Minuten Stillstand der Strömung und dann Deformation und Tödtung des Protoplasmas, ohne dass bis dahin eine Oxydationsfärbung im Zellsaft der Wurzelhaare bemerklich geworden war. Dieses Resultat war dasselbe, gleichviel ob sich die Objecte in Wasser oder in 0,3 proc. Lösung von Natriumdicarbonat befanden, welches in solcher Concentration nicht schädlich ist (vgl. p. 378). Ebenso fielen auch Versuche aus, in denen in der abgesperrten Glocke zunächst Ozonluft erzeugt und erst nach Sistirung der elektrischen Entladungen das Deckglas mit dem Versuchsobject in der Lösung von Natriumbicarbonat aufgelegt wurde.

Mit gleichem Erfolge stellte ich auch Versuche mit den Staubfadenhaaren von Tradescantia virginica an, in welchen sich die Wirkung ein wenig später, und, der Cuticula halber, von der verletzten Zelle aus geltend machte (vgl. S. 384). Auch in diesen Zellen war bis zur Tödtung nie eine entfärbende Wirkung im Zellsaft zu finden.

Diese Erfolge fallen nur auf das Ozon, welches in kleinen Quantitäten in der Luft entstand und, bei seiner geringen Löslichkeit in Wasser, jedenfalls nur in sehr kleinen Mengen zu den Pflanzenzellen gelangte. Salpetrige Säure, von der bei elektrischen Entladungen auch ein wenig entstehen kann, kam im freien Zustand nicht zu den in Natriumbicarbonatlösung eingebetteten Objecten und salpetrigsaures Ammonium oder Natrium sind selbst in 0,5 proc. Lösung erst nach langer Zeit schädlich. Directen elektrischen Wirkungen waren die Versuchsobjecte überhaupt nicht ausgesetzt und zudem wurde ein gleiches Resultat erhalten, als erst nach Sistirung der Entladungen das Deckglas mit dem Hängetropfen in Berührung mit der ozonhaltigen Luft kam.

Ozon gelangt also durch die Zellhaut bis zum Protoplasma, wird aber in diesem sofort zersetzt und vermag deshalb den Zellsaft nicht zu erreichen, in welchem es bei unsern Versuchsobjecten zweifellos

sichtbare Oxydationserfolge erzielt hätte. Jedenfalls ist also Ozon in hohem Grade giftig, gleichviel ob es diese schädlichen Erfolge nur durch oxydirende Eingriffe oder in noch anderer Weise erzielt.

Nach solchen Erfahrungen hatte ich keine Veranlassung, meine Versuche nach dieser Richtung auszudehnen und ich will die Möglichkeit zugeben, dass es je nach den Pflanzen und der Versuchsanstellung, z. B. bei Anwendung von Ozonwasser, doch gelingen mag, Oxydationswirkungen im Zellsaft durch Ozon zu erzielen, oder solche im Protoplasma, etwa durch Entfärbung von Cyanin, bemerklich zu machen. Doch würde damit in keiner Weise den Schlussfolgerungen Abbruch gethan, welche auf Grund der Erfahrungen mit Wasserstoffsuperoxyd bezüglich der Existenz und der Wirkung von activirtem Sauerstoff in der Zelle zu ziehen sind. Denn wenn nach dem Ausbleiben oxydirender Wirkungen schon Wasserstoffsuperoxyd in der Zelle mangelt, so ist natürlich auch das so viel energischer wirkende Ozon und ebenso der dem Ozon noch überlegene nascirende Sauerstoff ausgeschlossen (vgl. p. 375). In solcher Erwägung habe ich auch nicht nach Versuchen gestrebt, in denen in der Zelle nascirender Sauerstoff zur Wirkung kommt. Unmöglich wenigstens erscheint es nicht, durch Einführung bestimmter Körper in die Zelle zu erreichen, dass nachweislich der nur im Entstehungszustand denkbare atomistische Sauerstoff, im lebenden Organismus seinen Ursprung nimmt.

Die sehr giftigen Wirkungen des Ozons auf den thierischen Organismus sind schon länger durch Dewar und Mac Kendrik, sowie durch Redfern u. A.[1]) bekannt. Auch hat Liebreich[2]) auf die giftige Wirkung des Ozons hingewiesen. Woran es lag, dass nach Dumas[3]) die Gährung und nach Vogel[4]) die Keimung durch Ozon nicht schädlich beeinflusst wurde, vermag ich nach den mir vorliegenden kurzen Bemerkungen nicht zu beurtheilen.

---

1) Vgl. Graham-Otto, Lehrbuch d. Chemie 1878, V. Aufl., Bd. II, 1, p. 72.

2) Chem. Centralblatt 1880, p. 589. Vgl. auch Harnack, Lehrbuch der Arzneimittellehre u. Flügge, Mikroorganismen 1886, p. 531.

3) Annal. d. chimie et d. physique 1875, V. sér., Bd. 3, p. 92.

4) Botan. Jahresb. 1886, p. 133. Das Original ist mir unbekannt.

VII. Beweise für das Fehlen von activirtem Sauerstoff in der lebendigen Zelle.

Nach Mittheilung der Versuchsresultate soll nun, und zwar zunächst ohne ein näheres Eingehen auf den Athmungsprocess, dargelegt werden, in wie weit aus den gewonnenen Erfahrungen Schlüsse hinsichtlich der Existenz oder Nichtexistenz von activirtem Sauerstoff in der lebensthätigen Zelle zu ziehen sind. Mit Rücksicht auf diese Frage wurden ja, wie einleitend bemerkt ist, die Studien über die Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds in lebenden Zellen unternommen.

Das Ausbleiben derjenigen Färbungen und Entfärbungen im Zellsaft und Protoplasma, durch welche eingeführtes Wasserstoffsuperoxyd sogleich bemerklich wird, beweist nicht nur, dass kein Wasserstoffsuperoxyd in der lebensthätigen Zelle entsteht, sondern dass überhaupt in dieser in keiner Weise gleich starke oder noch stärkere Oxydationswirkungen gegen unsere Indicatoren zu Stande kommen. Denn diese würden ja jedwelche genügend energische Oxydationswirkung anzeigen, gleichviel ob diese durch Wasserstoffsuperoxyd, Ozon, nascirenden Sauerstoff, durch irgend eine Sauerstoffverbindung oder einen Sauerstoffübertrager oder sonst in irgend welcher Weise ausgeübt würde. Auf den Mangel von passivem Sauerstoff aber fallen die negativen Resultate nicht, denn passiver Sauerstoff ist im Protoplasma und Zellsaft vorhanden, wie weiterhin noch zu zeigen sein wird.

Da die natürlich vorkommenden Indicatoren im Zellsaft gelöst sind und das eingeführte Cyanin das ganze Protoplasma durchtränkt, so würde auch eine localisirte entsprechende Oxydirung angezeigt werden, und es ist also auch bewiesen, dass eine solche z. B. weder an einzelnen Partien des Protoplasmas, noch an der Grenze von Protoplasma und Zellsaft stattfindet. Auch fehlt der Regel nach solche Oxydation an der Aussenfläche des Protoplasmas, wie schon aus den mitgetheilten und aus noch weiterhin zu besprechenden Versuchen zu entnehmen ist. Dieses allseitigen Vorhandenseins und eventuellen Nachdringens an die Verbrauchsorte halber, würden unsere Indicatoren ebenso existenzfähige als nur je momentan bestehende Oxydationsbedingungen anzeigen, also z. B. auch den nur im Entstehungszustand in Betracht kommenden atomistischen Sauerstoff.

Thatsächlich ist, wie früher (p. 389) dargethan, das durch viele Ursachen leicht zerfallende Wasserstoffsuperoxyd im Protoplasma relativ beständig und könnte dieserhalb in demselben in kleinen Mengen recht wohl entstehen und bestehen. Aus dieser relativen Beständigkeit im Protoplasma ist aber nicht nur zu ersehen, dass irgend auffällig zersetzende Ursachen mangeln, sondern auch dass Körper, überhaupt Verhältnisse fehlen, durch welche das Wasserstoffsuperoxyd zu einem sehr energischen Oxydationsmittel wird (vgl. p. 376). Denn wenn das Wasserstoffsuperoxyd etwa zu kräftiger Wirkung gesteigert würde, wie sie dem Ozon zukommt, so könnte es im Protoplasma sich nicht erhalten und würde, ebenso wie Ozon, schon in sehr geringen Mengen tödtlich sein.

Deshalb bedarf es aber doch, wie schon (p. 409) hervorgehoben wurde, und auch noch zu behandeln ist, gewisser Vermittelungen, um dem Wasserstoffsuperoxyd die beobachteten Oxydationen oder wenigstens viele dieser, zu ermöglichen. Wie dem auch sei, jedenfalls sind diese Indicatoren ein Zeugniss für den Mangel einer jedwelchen Oxydation, wie sie das immerhin verhältnissmässig schwach wirkende Wasserstoffsuperoxyd zu erzielen vermag, wie sie aber nicht durch den auch in der Zelle vorhandenen passiven Sauerstoff hervorgerufen werden. Als Ausdruck dieser Differenz soll auch in Folgendem allgemein vom Fehlen eines activirten Sauerstoffs geredet werden, wenn auch die empirischen Erfahrungen allgemein ein Beweis für das Fehlen jedwelcher entsprechenden Oxydation in der Zelle sind, gleichviel ob solche von einem einfachen Process oder einer Kette von Vorgängen abhängig ist.

Das stetige Fehlen von activirtem Sauerstoff im Zellsaft wird auf das Schärfste durch den Mangel von Färbung, resp. Entfärbung in den Versuchspflanzen bewiesen, deren Zellsaft bei Zufuhr sehr geringer Mengen von Wasserstoffdioxyd sogleich entsprechend reagirt. Denn diese Reactionen bleiben, einmal ausgeführt, wie früher (p. 392) gezeigt wurde, unverändert in der lebensthätigen Zelle erhalten und selbst eine möglichst geringe Oxydationsfärbung hatte während 20 Tagen in den Zellen des Stengels von Faba gleiches Colorit bewahrt. Da ferner dargethan wurde, dass die geringsten in den Zellsaft gelangenden Quantitäten von Wasserstoffsuperoxyd zu Oxydationszwecken verwandt werden, so müsste mit der Zeit eine deutliche Reaction

auch dann entstehen, wenn dauernd oder zeitweilig äusserst geringe Mengen von activirtem Sauerstoff im Zellsaft selbst entstünden oder von Aussen in diesen gelangten. Eine solche Oxydationsreaction aber unterbleibt thatsächlich während der ganzen Lebenszeit in den Zellen unserer Indicatorpflanzen.

Dieses Verhalten des Zellsaftes lehrt natürlich auch, dass vom Protoplasma aus kein Wasserstoffsuperoxyd oder irgend eine entsprechend wirkende Sauerstoffform oder Sauerstoffverbindung in den Zellsaft gelangt. Indess könnte deshalb immer noch im Protoplasma activirter Sauerstoff entstehen, welcher seiner momentanen Existenz oder des Consums im Plasma oder anderer Ursachen halber, nicht in den Zellsaft gelangt. Dass dem nicht so ist, beweisen aber die gerade dieserhalb wichtigen Versuche mit Cyanin, welche zeigen, dass dieser durch Wasserstoffsuperoxyd so leicht im Protoplasma entfärbbare Körper in der lebensthätigen Zelle keinen Oxydationen unterliegt, ein Beweis, dass selbst sehr leicht durch activirten Sauerstoff oxydable Körper im lebensthätigen Protoplasma bestehen können.

Allerdings verweilt das eingeführte Cyanin, ebenso wie andere gespeicherte Farbstoffe, nicht unbegrenzt in dem Protoplasma, weil es langsam exosmirt, und es wären deshalb natürlich vorkommende Indicatoren, wie solche sich im Zellsaft finden, erwünscht, doch haben die bisherigen Erfahrungen keinen solchen kennen gelehrt. Indess genügen auch die Ergebnisse mit Cyanin ganz vollständig, um die Wirkung von activirtem Sauerstoff, und speciell mit Rücksicht auf den Athmungsprocess, auszuschliessen. Denn die so ungeheuer geringen Mengen des Cyanins in einem matt gefärbten Protoplasma erhalten sich doch immerhin 24 Stunden lang und wohl noch länger in wahrnehmbarer Weise, während im Athmungsprocess verhältnissmässig sehr grosse Stoffmengen oxydirt werden. Wie noch späterhin (Cap. 10) berührt wird, können energisch thätige Zellen in 24 Stunden 1 bis 7% ihres Körpergewichts an Kohlensäure produciren, und da diese im Protoplasma entsteht, so fällt in Bezug auf das Gewicht dieses die Kohlensäureproduction noch viel ansehnlicher aus.

Wie die übrigen Versuche mit Cyanin sind im Cap. 4 auch die Belege mitgetheilt, welche beweisen, dass die Oxydation von Cyanin dieses dauernd verschwinden machen müsste, weil das lebensthätige Protoplasma nicht befähigt ist, das farblose Oxydationsproduct zu

reduciren. Es mag auch noch darauf hingewiesen sein, dass die Entfärbung von Cyanin und ebenso der rothen und blauen Farbstoffe im Zellsaft von jedwelcher Oxydation Kunde geben würden, und das Verbleiben des farbigen Oxydationsproductes im Zellsaft von Faba, Trianea u. s. w. spricht, wie auch andere mitgetheilte Erwägungen, gegen einen activirten Sauerstoff, dessen Wirkungen nicht in Färbungen bemerklich werden, weil er das Chromogen zu farblosen Producten verbrennt.

Der Mangel von activirtem Sauerstoff im Protoplasma schliesst auch Secretion eines zur Diosmose befähigten activirten Sauerstoffs (resp. einer Sauerstoffverbindung) aus. Ferner kann solcher activirter Sauerstoff nicht an der Aussenfläche des Protoplasmas oder überhaupt ausserhalb der Zelle in einiger Menge entstehen, da er mit dem Eindringen in die Zellen dieselben Oxydationen hervorrufen würde, wie sie kleine Mengen von Wasserstoffsuperoxyd erzielen.

Ausserdem sprechen anderweitige Versuche mit Penicillium glaucum dafür, dass die für andere Pflanzen gefundenen Resultate auch für diesen Schimmelpilz gelten. Da indess für Beurtheilung der Experimente die Activirung des Sauerstoffs durch ausgetretene Pflanzensäfte und Secrete in Erwägung zu ziehen ist, so finden jene besser erst weiterhin Besprechung (Cap. 10). Erwähnt mag nur sein, dass als Reagentien mit etwas Eisenlactat versetzte Lösungen von Indigo, Methylenblau und Cyanin dienten, welche durch Wasserstoffsuperoxyd sofort, durch die lebenden Zellen des Pilzes anscheinend aber nicht entfärbt wurden. Mit Rücksicht darauf, dass Indigo nicht, wohl aber das in dem Protoplasma oxydable Cyanin in die Zelle eindringt, folgt, dass Penicillium weder innerhalb noch ausserhalb der lebenden Zelle activirten Sauerstoff producirt.

Einige ähnliche Versuche mit beleuchteten Algen und ebenso das Nichtfärben oxydabler Chromogene und Farbstoffe des Zellsaftes in den chlorophyllführenden und den diese umgebenden Zellen beweisen, dass auch der in der Kohlensäurezersetzung am Licht erzeugte Sauerstoff beim Austritt aus dem Protoplasma nicht activirt ist. Auch diese Frage soll erst späterhin besprochen werden.

Eine Wirkung durch activirten Sauerstoff vermochten wir also in keinem Falle innerhalb einer lebenden Zelle zu erkennen, und da

verschiedene Pflanzen und Pflanzentheile ein gleiches Ergebniss lieferten, dürfen wir wohl das Fehlen von activirtem Sauerstoff in lebenden Zellen als Regel ansehen. Es scheint dieses auch für Schimmelpilze unter normalen Culturverhältnissen zu gelten, dagegen ist es unentschieden, ob nicht Gährungsorganismen Ausnahmen bieten. Bei der besonderen Lebens- und Wirkungsweise dieser ist es wohl möglich, dass sie auch Oxydationen durch Activirung von Sauerstoff erzielen. Diese Frage, die späterhin noch einmal gestreift wird, lasse ich unentschieden und hebe nur hervor, dass alle unsere Schlussfolgerungen zunächst nicht auf Gährungsorganismen übertragen werden dürfen.

Das Fehlen von activirtem Sauerstoff kann natürlich nur als allgemeine Regel ausgesprochen werden, von welcher sich bei bestimmten Pflanzen oder unter besonderen Versuchsbedingungen wohl einmal Ausnahmen finden mögen. Bis dahin sind mir freilich solche nicht aufgestossen. Es gehört aber nicht mehr zu den Eigenschaften des lebendigen Zellinnern, wenn, wie es scheint (Cap. 10), gewisse nach aussen secernirte Stoffe unter Umständen durch Activirung von Sauerstoff auf die Umgebung wirken können. Der Mangel der Färbung, resp. Entfärbung in allen lebenden Zellen von Faba, Trianea, Tradescantia und anderen Indicatorpflanzen, während der ganzen Lebenszeit lehrt unmittelbar, dass innerhalb dieser und trotz mannigfach wechselnder äusserer Bedingungen im Zellsaft keine Wirkung von activirtem Sauerstoff sich einstellt. Nach diesen Erfahrungen konnte man wohl erwarten, wie es auch der Versuch für Stengel und Wurzel von Faba ergab, dass eintägiger Aufenthalt bei 1—3° C. oder 40—42° C., Verweilen in 1 % Sauerstoff enthaltender Luft oder in reinem Sauerstoff, Einwirkung von Chloroformdampf und Hungerzustand bis zu beginnendem Absterben keine Färbung im Zellsaft erzielte, so lange die Zellen noch lebend waren. Ebenso färben sich nicht, trotz veränderter Thätigkeit, die einer Verwundung nächstbenachbarten Zellen.

Zu gleichem Resultat führten einige Versuche mit den Wurzelhaaren von Trianea bogotensis, in welchen der Mangel von activirtem Sauerstoff durch die bleibende Cyaninfärbung im Protoplasma constatirt wurde. In diesen Versuchen wurden gleiche Resultate wie unter normalen Verhältnissen erhalten mit Pflanzen, welche durch

Aufenthalt im Dunkeln bis zu beginnendem Absterben einzelner Wurzeln gebracht worden waren, bei 5stündigem Aufenthalt in 2° und 40° C., bei ebenso langem Verweilen in sauerstoffarmer Luft und in reinem Sauerstoff, und ebenso bei 5stündiger Einwirkung von Wasser, das etwas Chloroform enthielt und die Strömung des Protoplasmas sistirte. Ich begnüge mich mit diesen Angaben, da eine nähere Beschreibung der Versuche nicht geboten scheint.

Unsere Versuchsobjecte würden auch eine jede nur localisirte Entstehung von activirtem Sauerstoff durch eine entsprechende Reaction anzeigen und deshalb gelten die bisherigen und ebenso die noch folgenden Erörterungen und Schlüsse ebenso für den Fall, dass der activirte Sauerstoff nur an bestimmten Stellen seine Entstehung oder seinen Eintritt findet. Dieses hätte für die Reaction im Zellsaft, in welchem sich die gelösten Körper wie in jeder Lösung mischen, keine Bedeutung, dagegen ist das Protoplasma ein gegliederter Organismus, dessen Organe und Theile thatsächlich das Cyanin ungleich speichern und recht wohl auch, wie wohl in vielen Functionen, bei der Production von activirtem Sauerstoff ungleich betheiligt sein könnten.

Doch bei solcher functionellen Arbeitstheilung würde dennoch die Entfärbung des Cyanins den in einzelnen Theilen entstehenden activirten Sauerstoff anzeigen. Denn sind auch thatsächlich die Mikrosomen und nächstdem gewisse andere differenzirte Plasmamassen die wesentlich blau gefärbten Organe (vgl. p. 416), so fehlt doch Cyanin in der übrigen, relativ farblos erscheinenden Masse des Protoplasmas nicht ganz. Würde aber u. a. in letzterer allein activirter Sauerstoff entstehen, der z. B. als nascirender Sauerstoff auch nur an dieser Stelle oxydirend wirken könnte, so hätte die Oxydation der thatsächlich vorhandenen kleinen Cyaninmenge, also deren Entfernung, nach den für die Stoffvertheilung allgemein gültigen Gesetzen, eine Nachbewegung des Farbstoffs und so endlich eine gänzliche Entfärbung des Protoplasmas zur Folge.

Die verhältnismässig schnelle Wanderung des Cyanins von gefärbten zu ungefärbten Mikrosomen, bei welchen ja die Zwischenmasse den Austausch zu vermitteln hat, lässt sich direct demonstriren, und damit ist auch die Richtigkeit obiger Discussion erwiesen. Taucht man nämlich mit Cyanin gefärbte Wurzelhaare, in welchen durch

kurze Wirkung von Chloroformwasser die Protoplasmaströmung zum Stillstand gebracht war, ganz vorübergehend mit ihren Spitzen in 0,01 proc. Wasserstoffdioxyd und spült dann sofort das Reagens ab, so gelingt es zuweilen sehr gut, die blaue Farbe allein in dem freien Theile des Haares zu entfernen, während in der Basis desselben schön blaues Protoplasma verbleibt (vgl. p. 417). Kehrt nun die Strömung bei Aufenthalt in Wasser bald zurück, so ist auch schnell wieder das Protoplasma gleichmässig, aber natürlich schwächer als zuvor, gefärbt, d. h. Cyanin ist von den ungefärbten zu den gefärbten Mikrosomen durch die Zwischenmasse gewandert. Ich fand solche gleichmässige Färbung schon 1 bis 2 Minuten nach Beginn der Strömung erreicht, welche natürlich beschleunigend mitwirkt. Da die Strömung auch während des Lebens thätig ist, so hatte ich keinen Grund, die Ausgleichung bei gehinderter Protoplasmabewegung zu studiren, doch sah ich nebenbei, dass auch unter solchen Bedingungen die Färbung sich anscheinend ziemlich schnell ausgleicht.

Aus gleichen Gründen müsste es aber auch zu einer Totalentfärbung des Protoplasmas führen, wenn etwa nur im Zellkern Cyanin oxydirt würde. Denn erscheint dieser auch in dem blauen Plasma ungefärbt[1]), so geht ihm doch um so gewisser nicht alle Speicherung von Cyanin ab, als ich nachträglich für die Zellkerne in den Staubfadenhaaren von Tradescantia zebrina und in den Parenchymzellen der Wurzelblätter von Sagittaria sagittaefolia eine schwache Färbung durch Cyanin in lebenden Zellen fand[2]).

Jedenfalls kommt also in der lebensthätigen Zelle normalerweise kein activirter Sauerstoff zur Entstehung, welcher auf unsere leicht oxydirbaren Indicatoren im Protoplasma und im Zellsaft einzuwirken vermag. Doch ist in Erwägung zu ziehen, ob nicht diese Indicatoren intact bleiben, weil noch leichter oxydable Stoffe, welche fortwährend in der Zelle vorhanden sind und nachgebildet werden, dauernd die Gesammtmenge des activirten Sauerstoffs beschlagnahmen. An eine eigentliche Anhäufung von activirtem Sauerstoff kann man natürlich in keinem Falle denken. Höchstens könnten kleine Mengen von Wasserstoffsuperoxyd im Protoplasma bestehen, doch ist das

---

1) Pfeffer, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. II, p. 259.

2) Ueber Kernfärbungen in lebenden Zellen vgl. Campbell, ebenda p. 569.

Vorhandensein von Wasserstoffsuperoxyd oder irgend einer in ähnlicher Weise wirkenden Sauerstoffverbindung durch die Thatsachen widerlegt. Dieses gilt ebenso für Ozon, welches auch seiner nachgewiesenen schädlichen Eigenschaften halber nur bei einer sofortigen Beschlagnahme am Entstehungsorte in der Zelle eine Rolle als oxydirendes Agens spielen könnte. Der atomistische Sauerstoff aber kann überhaupt nur im Augenblick seiner Bildung in Betracht kommen, da sich sonst sogleich die Atome zum Molekül des passiven Sauerstoffs vereinigen.

Ein derartiges Intactbleiben der Indicatoren ist nach den allgemeinen Grundsätzen der Chemie wohl verständlich, denn wenn verschiedene Reactionen gleichzeitig möglich sind, tritt in vielen Fällen nur eine, nach Maassgabe der grössten Affinität, ein. Als ein für unseren Fall passendes Beispiel sei an die verschiedenen Titrirungen erinnert, in welchen erst nach vollendeter Umsetzung der Indicator in Reaction tritt. Speciell für Wasserstoffsuperoxyd ist schon seit SCHÖNBEIN bekannt, dass z. B. bei Gegenwart von Schwefelwasserstoff erst dieser zersetzt sein muss, ehe die Oxydation einer sauern Indigolösung beginnt, und mit Ozon oder atomistischem Sauerstoff würde ein gleiches Resultat erhalten werden. Ausserdem ist auch die katalytische Zersetzung von Wasserstoffsuperoxyd als ein Mittel zu beachten, welches einen Körper vor Oxydation schützen kann. Solches soll nach BERGENGRUEN[1]) z. B. für das Blut zutreffen, indem die Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds durch das Stroma des Blutes die Oxydation des Hämoglobins verhindert, welches für sich durch Wasserstoffsuperoxyd leicht oxydabel ist. Uebrigens kommt nach den mitgetheilten Erfahrungen solche katalytische Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds für die Reactionen im lebensthätigen Protoplasma nicht in Betracht.

In physiologischer Hinsicht wäre eine solche Deckung nur ein specieller Fall des electiven Stoffwechsels, in welchem ja der Consum eines Stoffes verhindert, dass andere Stoffe im Organismus nicht in den Umsatz gezogen werden. Solche Wechselbeziehungen sind zweifellos im Organismus, worauf ich schon einigemal hinwies und

1) Ueber die Wechselwirkung zwischen Wasserstoffsuperoxyd und verschiedenen Protoplasmaformen 1888, p. 46. Vgl. auch p. 389 Anmerkung.

einmal ausführlicher darzuthun gedenke, von der mannigfachsten und weittragendsten Bedeutung, so z. B. für Erzielung eines ökonomischen Nährstoffconsums und für viele Vorgänge der Selbstregulation. Von den bis dahin veröffentlichten hierher gehörenden Thatsachen erinnere ich an die bekannte Beobachtung Pasteur's, dass Schimmelpilze, bei Darbietung von Traubensäure als organischer Nahrung, zunächst die rechts drehende Weinsäure consumiren, und ferner nach Nägeli, wenn Zucker zugegen ist, nur eine geringere Menge von Proteïnstoffen verbrauchen, aus welchen sie andernfalls ihren ganzen Nährstoffbedarf zu decken vermögen[1]). Auch zählen hierher einige Beispiele von electiver Gährthätigkeit.

Eine solche Deckung unserer Indicatoren könnte natürlich im Näheren in verschiedener Weise erreicht werden. Der Hauptsache nach würde es sich aber um eine fortwährend in der Zelle unterhaltene gewisse Anhäufung des Materiales handeln, welches den activirten Sauerstoff mit seiner Entstehung beschlagnahmt, oder activirter Sauerstoff und Oxydationsmaterial müssen stets in solchem Verhältniss gleichzeitig und an demselben Ort entstehen, dass niemals ein Ueberschuss von activirtem Sauerstoff sich einstellt, denn das würde Oxydation des Cyanins im Protoplasma zur Folge haben.

Wir sehen hier zunächst von der zuletzt angeführten Möglichkeit ab, um zu zeigen, dass deckende Stoffe sich nicht in der lebensthätigen Zelle anhäufen. Da diese Fragen wesentlich für die Oxydation in der Athmung Bedeutung haben, diese aber zweifellos im Protoplasma sich abspielt, so soll zunächst nur auf letzteres Rücksicht genommen werden.

Erinnert sei daran, dass die Strömung im Protoplasmakörper zugleich eine zureichende Athmungsthätigkeit kennzeichnet, denn mit Entziehung, oder auch nur sehr weitgehender Verminderung des Sauerstoffs, steht diese Strömung stille, um bei erneuter Zufuhr in der lebendigen Zelle zurückzukehren[2]). Da aber die Strömung nur die Realität der Athmungsthätigkeit kennzeichnet, so ist damit z. B. nicht ausgeschlossen, dass bei Zufuhr von Wasserstoffdioxyd dieses an Stelle des passiven Sauerstoffs in den bezüglichen Oxydationsvor-

1) Vgl. Pfeffer, Physiologie I, p. 233, 271, 300. Vgl. auch ebenda p. 9.
2) Vgl. Clark, Bericht. d. bot. Gesellsch. 1888, p. 273.

gang eingreift. Auch ist aus anscheinend unveränderter Strömungsschnelligkeit nicht zu entnehmen, ob die Oxydationsvorgänge unverändert blieben oder ob diese vielleicht bei Zufuhr von Wasserstoffsuperoxyd irgendwie gesteigert wurden. Abgesehen von der Reaction der Indicatoren fehlen hierüber bestimmte Erfahrungen, und unbekannt ist auch, ob die Kohlensäureproduction durch Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd etwas gesteigert werden kann.

Wären solche deckende Stoffe vorhanden, so müssten diese leichter oxydabel sein, als Cyanin, dürften aber nicht durch den passiven Sauerstoff verbrannt werden. Denn nur unter letzterer Voraussetzung wäre ihr Bestehen im Protoplasma möglich, in welchem nachweislich freier Sauerstoff vorhanden ist, und wenn sie nicht schwieriger oxydabel wären als Cyanin, würde eben dieses, das in alle Partien des Protoplasmas dringt, den activirten Sauerstoff beschlagnahmen. Demgemäss müsste solches Deckungsmaterial durch Eindringen von überschüssigem Wasserstoffsuperoxyd im Protoplasma beseitigt werden. Nach solcher Einwirkung verhält sich aber das sogleich mit Cyanin behandelte Protoplasma der Wurzelhaare von Trianea ebenso gefärbt, wie vor solcher Behandlung (vgl. p. 418). Es kann also eine nennenswerthe Ansammlung solcher leichter oxydabler Stoffe im Protoplasma nicht vorhanden gewesen sein und die Wirkung von oxydirenden Ursachen auf Cyanin verhindert haben.

Zu gleichem Schlusse führt auch die Erfahrung, dass in den Wurzelhaaren von Trianea die Protoplasmaströmung unverändert fortdauert, wenn das Wasserstoffsuperoxyd nach der Einwirkung schnell ausgewaschen wird. Denn wäre die Ansammlung solcher leichter oxydabler Körper für den Unterhalt der Oxydationsvorgänge in der Athmung nothwendig, so müsste man zunächst nach Beseitigung jener eine gewisse Störung in der Athmung erwarten, die sich wenigstens in der Protoplasmaströmung nicht ausspricht. Auch sind das schnelle Vordringen von verdünntem Wasserstoffsuperoxyd bis zum Zellsaft von Trianea u. a., sowie die schnelle Oxydation des im Protoplasma gespeicherten Cyanins wenigstens Argumente, dass nennenswerther Aufenthalt durch anderweitige Oxydationswirkungen im Protoplasma nicht stattfindet. Ferner kann angeführt werden, dass bei thunlichst weit getriebenem Hungerzustand dennoch Cyanin in dem Protoplasma der Wurzelhaare von Trianea sich unverändert erhält.

Nach den mitgetheilten Argumenten kann die Beständigkeit des Cyanins im Protoplasma nicht durch Anhäufung leichter oxydabler Stoffe bedingt sein. Wenn demgemäss bei den Verbrennungsprocessen in der Zelle dem activirten Sauerstoff überhaupt eine Rolle zufallen sollte, so müsste dieser gleichzeitig mit dem zu oxydirenden Material und zwar, bei allen Schwankungen der Athmungsintensität, in einem proportionalen Verhältniss erzeugt werden, und nie dürfte ein Ueberschuss von activirtem Sauerstoff entstehen, denn das würde eine Entfärbung des Cyanins im Protoplasma bewirken. Aus schon angeführten Gründen dürften ferner diese beiden Processe nicht räumlich getrennt verlaufen, und ebenso müsste wiederum das entstehende Verbrennungsmaterial leichter oxydabel sein, als Cyanin.

Unter solchen Voraussetzungen wäre der activirte Sauerstoff mit keinem Reagens zu erkennen, es sei denn, dass dieses noch leichter oxydabel ist, als das entstehende Verbrennungsmaterial, oder dass es gelingt, die Production dieses letzteren einseitig zu hemmen oder zu unterdrücken. Natürlich hätte man aber bei Gleichzeitigkeit zweier derartiger Processe, von welchen der eine selbständig auf Erzeugung von activirtem Sauerstoff hinarbeitet, diesen letzteren als einen im physiologischen Verbrennungsprocess mitwirkenden oder entscheidenden Factor anzusprechen. Anders aber, wenn der passive Sauerstoff direct eingreift oder wenn dieser zunächst in Verbindung mit einem Körper tritt, der nun mit einem anderen Stoffe in wechselseitige Umsetzungen tritt, in denen durch Ortsveränderungen der Sauerstoffatome auch hoch oxydirte Producte, wie Kohlensäure, entspringen. In einem solchen Processe kann natürlich ebenso wenig von einer Activirung des Sauerstoffs die Rede sein, wie in beliebigen chemischen Umlagerungen, die zu anderen Sättigungen von Sauerstoffaffinitäten führen. Doch kann in solchen Processen ein Körper dauernd als Sauerstoffüberträger wirksam sein, dann nämlich, wenn er bei den Umsetzungen stetig wieder zu seiner früheren Form regenerirt wird und damit immer von neuem die Eigenschaft gewinnt, den neutralen Sauerstoff an sich zu reissen. In derartigen, hier nur dem allgemeinsten Princip nach angedeuteten Umsetzungen sind die wechselseitigen Affinitäten der aufeinander wirkenden Körper und ist nicht schlechthin die Oxydirbarkeit des einen Stoffes wesentlich entscheidend. Ja es ist wohl möglich, dass gegenüber einem solchen Sauerstoffüber-

träger der leichter oxydable Körper intact bleibt, während bei Einwirkung von activirtem Sauerstoff die Stoffe im allgemeinen nach Maassgabe ihrer Oxydirbarkeit der Verbrennung anheimfallen.

Entstehen aber activirter Sauerstoff und Verbrennungsmaterial in der oben gekennzeichneten Weise dauernd in einem proportionalen Verhältniss, so muss es in der lebenden Zelle ganz besondere Schwierigkeiten bieten, die Realität oder das Nichtwirken von activirtem Sauerstoff streng zu erweisen. Namentlich werden alle bezüglich des letzteren negativen Resultate gar leicht den Einwand gestatten, dass es nicht gelang, die gleichzeitig verlaufenden und zusammenwirkenden Vorgänge genügend zu trennen, um dem activirten Sauerstoff anderweitige Wirkungen zu gestatten. Doch wäre es auch gegen eine gesunde Empirie, in solcher Lage durch Winkelzüge dem activirten Sauerstoff ein Mitspielen zu retten, wenn die Argumente durchgehends gegen diesen sprechen und er für die Causalität des Athmungsprocesses ganz entbehrlich ist. Für Liebhaber teleologischer Erwägungen liesse sich auch anführen, dass, wenn denn doch einmal die Zelle leicht oxydable Körper schaffen muss, es schliesslich einfacher wäre, sogleich solche zu produciren, welche für sich den neutralen Sauerstoff spalten, als in der Activirung von Sauerstoff noch einen zweiten Process hereinzuziehen.

Gegen activirten Sauerstoff in dem bezeichneten Sinne spricht es jedenfalls, dass unter sehr verschiedenen Bedingungen und trotz sehr veränderter Athmungsenergie nie eine Wirkung des activirten Sauerstoffs auf Reagentien zu Stande kam. Um zu sehen, ob eine solche Wirkung erreichbar wäre, wurden gerade die schon (p. 434) mitgetheilten Versuche mit Faba und namentlich mit Trianea angestellt und das Resultat war, dass weder im Hungerzustand, noch beim Verweilen in 2° C. oder 40° C., noch in reinem Sauerstoff oder sauerstoffarmer Luft, noch beim Chloroformiren jemals eine Oxydationswirkung auf Cyanin im Protoplasma der Wurzelhaare von Trianea bemerklich wurde. Wenn ja auch vollständig harmonisch zusammengreifendes Steigen und Fallen denkbar ist, so sollte man doch eher meinen, dass einmal der eine Process relativ schneller anwüchse, und das um so mehr, als z. B. die Athmungsthätigkeit mit der Temperatur dauernd steigt, während viele andere Processe bekanntlich von einem Optimum ab mit zunehmender Temperatur retardirt werden. Durch Versuche mit partieller

oder totaler Sauerstoffentziehung, die ja unter Umständen eine Anhäufung des oxydablen Materials herbeiführen könnten, darf man aus verschiedenen Gründen, so schon der eintretenden intramolekularen Athmung halber, keine bestimmte Entscheidung erwarten.

Auch aus den Einwirkungen von Wasserstoffsuperoxyd vermag ich, wenigstens auf Grund meiner Erfahrungen, keine bestimmten Schlussfolgerungen abzuleiten, obgleich dieser Körper, wie die schnelle Entfärbung des Cyanins lehrt, seinen Weg in alle Theile des Protoplasmas findet, und wohl sicher activirten Sauerstoff, sofern solcher entsteht, für sich in Beschlag nehmen wird. Denn das labile Sauerstoffatom des Wasserstoffdioxyds vermag sogar nicht zu fest geketteten Sauerstoff aus Verbindungen zu entreissen und würde wohl sicherlich mit jedem activirten Sauerstoff zum Sauerstoffmoleküle zusammenschliessen[1]) und so in unserem Falle die Wirkung des supponirten activirten Sauerstoffs eliminiren. Da aber dann das überschüssige Wasserstoffsuperoxyd das gleichzeitig im Protoplasma entstehende supponirte leichter oxydable Material verbrennen würde, so bliebe die Athmung dennoch bestehen und es könnte sogar aus der bei dem Umsatz von activirtem Sauerstoff und Wasserstoffsuperoxyd entspringenden Wärmetönung unter Umständen selbst ein gewisser Gewinn von Betriebskraft entspringen.

Es ist hier nicht nöthig, in ähnlicher Weise den Zellsaft zu behandeln, in welchem als einem für sich todten Organe des lebendigen Protoplasmaleibes, die Athmungsoxydationen nicht zu suchen sind. Uebrigens lassen sich die obigen Argumentationen theilweise auch auf den Zellsaft anwenden. Dass nicht im Zellsaft leichter oxydable Stoffe sind, welche in unseren Indicatorpflanzen trotz des dauernden Entstehens von activirtem Sauerstoff die entsprechenden Reactionen verhindern könnten, ist aus der Schnelligkeit zu entnehmen, mit der sehr geringe Mengen von Wasserstoffsuperoxyd Färbung oder Entfärbung hervorrufen. Auch liessen die auf p. 434 angegebenen

---

1) Nach Baumann (Zeitschrift f. physiol. Chemie 1881, Bd. V, p. 252) dürfte bei Zersetzung von Ozon durch Wasserstoffdioxyd neben Wasser wohl nur molekularer Sauerstoff entstehen, während bei Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd auf nascirenden Sauerstoff daneben Ozon entstehen soll, das aber bei überschüssigem Wasserstoffsuperoxyd in dem obigen Sinne sogleich weiter zerfallen würde.

Versuche, in denen Fabakeimpflanzen unter sehr verschiedenen Bedingungen gehalten wurden, nie eine Spur von Oxydationswirkung im Zellsaft erkennen, und eine solche fand sich auch nicht in älteren Freilandpflanzen, obgleich eine erzielte Oxydationsfärbung fürs ganze Leben conservirt bleibt. Einige hier anschliessende Fragen werden noch zu streifen sein, während wir weiterhin die Ursachen für die Nichtoxydation des Chromogens im Zellsaft der lebenden Zellen zu besprechen haben.

Auf Grund der empirischen Erfahrungen kommt also in der lebensthätigen Zelle activirter Sauerstoff nicht zur Entstehung, und wenn dieser, was nach den angestellten Erwägungen mit einer an Gewissheit grenzenden Wahrscheinlichkeit negirt werden muss, dennoch in dem ausgedehnten Oxydationsvorgang der Athmung eine Rolle mitspielen sollte, so könnte dieses, wie gezeigt wurde, nur in der Weise der Fall sein, dass leicht oxydables Material und activirter Sauerstoff unter allen Bedingungen in einem proportionalen Verhältniss entständen und sogleich mit der Entstehung aufeinander wirkten. Die Production von activirtem Sauerstoff in der lebendigen Zelle ist aber bisher überhaupt durch keinen empirischen Beleg erwiesen oder auch nur wahrscheinlich gemacht, und die mitgetheilten Versuche sind die ersten, welche an der Hand einwurfsfreier Experimente die Frage über Vorhandensein oder Fehlen des activirten Sauerstoffs im Innern der lebendigen pflanzlichen Zelle zu entscheiden suchten. Bis auf die Function des lebendigen Protoplasmaleibes selbst gehen die nur aus der Thierphysiologie bekannt gewordenen Versuche in dieser Angelegenheit nicht zurück, und Experimente, in denen die ausserhalb der Zelle befindlichen Körper eine Rolle mitspielen, dürfen schon deshalb nicht für die Functionen in der Zelle herbeigezogen werden, weil thatsächlich auch ausgepresste Pflanzensäfte gewisse Activirung von Sauerstoff, oder wenigstens gewisse Oxydationswirkungen gegen Reagentien erzielen können (vgl. Cap. 10). SCHÖNBEIN, welcher solche Activirungen erkannte, zeigte übrigens, dass die frischen Pflanzensäfte den activirten Sauerstoff nicht in sich tragen, sondern erst aus dem neutralen Sauerstoff der zutretenden Luft bilden[1]), und die Erfahrungen dieses Forschers können also jedenfalls nicht, wie es dann und wann

1) SCHÖNBEIN, Journal f. prakt. Chemie 1868, Bd. 105, p. 201, 215.

irrig geschah, als Beweise für Existenz activirten Sauerstoffs in der lebenden Zelle angeführt werden.

Auf die Unveränderlichkeit von Kohlenoxyd[1]) und Stickstoff[2]) im vegetabilischen Organismus ist in unserer Frage kein Schluss zu ziehen, obgleich diese Gase zweifellos in die lebendige Zelle eindringen. Denn die bezeichneten Elemente werden überhaupt nur von atomistischem Sauerstoff, aber schon nicht von Ozon zu Kohlendioxyd, resp. salpetriger Säure[3]) oxydirt, und da diese Oxydation augenscheinlich nur schwierig von statten geht, würde sich atomistischer Sauerstoff, wenn er in der Zelle entstände, in dieser wohl gewiss allein auf die leichter oxydablen organischen Körper werfen.

Schlüsse auf activirten Sauerstoff in der Zelle, die nur auf theoretischen Anschauungen über den Oxydationsprocess in der Athmung basiren[4]), haben natürlich gegenüber Thatsachen keine Bedeutung. Ferner kann auf Grund der Erfahrung, dass in gewissen Oxydationsprocessen, speciell bei Autoxydation, activirter Sauerstoff ins Leben tritt[5]), dessen Entstehung im Athmungsprocess nicht gefordert werden, denn die chemischen Vorgänge in diesem sind einmal nicht zureichend bekannt, und dann ist Allgemeinheit für Entstehung von activirtem Sauerstoff in entsprechenden chemischen Processen überhaupt noch nicht nachgewiesen.

An solche secundäre Bildung von activirtem Sauerstoff schliesst

---

1) Wenigstens die bisherigen Versuche ergeben keine Veränderung des Kohlenoxyds durch die Pflanze. Vgl. die Literatur in meiner Pflanzenphysiologie Bd. I, p. 198 und Just in Wollny's Forschungen a. d. Gebiete d. Agriculturphysik 1882, Bd. V, p. 60.

2) Wie es die Leguminosen anfangen, um, wie es scheint im Vereine mit Bacterien, den molekularen Stickstoff zu assimiliren, ist noch nicht aufgehellt und man kann nicht behaupten, dass gerade besondere Oxydationswirkungen im Spiele sein müssen.

3) Vgl. Baumann, Ztschr. f. physiol. Chemie 1881, Bd. 5, p. 244, 249.

4) Vgl. Cap. XI u. Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. I, p. 678.

5) Vgl. Traube, Bericht. d. chem. Ges. 1882, Bd. 15, p. 666, 2433; sowie Hoppe-Seyler und Baumann in den in nächster Anmerkung citirten Abhandlungen. Hierher gehört auch die Bildung von activirtem Sauerstoff (Ozon?) bei Oxydation von Aldehyden, ätherischen Oelen u. s. w. (Schönbein, Journal f. prakt. Chemie 1868, Bd. 105, p. 223 ff.). Die noch streitige Frage nach der Qualität des activirten Sauerstoffs können wir hier unberührt lassen.

sich auch die Annahme von HOPPE-SEYLER an, nach welcher nascirender Wasserstoff, durch Spaltung des Sauerstoffmoleküls, atomistischen Sauerstoff bildet und dadurch energische Oxydationen erzielt. Wir dürfen die chemische Seite[1]) des Vorgangs ganz ausser Acht lassen, dessen Uebertragung auf physiologisches Gebiet durchaus hypothetisch ist, und am wenigsten kann die Entstehung von Wasserstoff in manchen Gährungsvorgängen und in der intramolekularen Athmung einzelner Pflanzen als ein beweisendes Argument herbeigezogen werden. Das nachweisliche Fehlen von activirtem Sauerstoff in der Zelle entscheidet aber auch gegen diese Theorie. Uebrigens würde, bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd im Protoplasma, das freie Wasserstoffatom sicherlich nicht mehr den molekularen Sauerstoff spalten, sondern mit dem labilen Sauerstoffatom des Wasserstoffsuperoxyds sich zu Wassermolekülen vereinen und die Wirkungen des hypothetischen nascirenden Sauerstoffs wären damit eliminirt.

Bei der schon gekennzeichneten Sachlage genügen hier einige historische Bemerkungen über Annahme des Vorkommens oder Nichtvorkommens von activirtem Sauerstoff in der lebendigen Zelle. Die rein theoretischen Speculationen über Athmung, welche activirten Sauerstoff für diesen Process ohne weitere Argumente fordern, auf welche übrigens noch späterhin (Cap. 11) hingewiesen wird, übergehen wir hier, ebenso die physiologisch ganz unbegründete Hypothese ERLENMEYER's[2]), nach welcher Wasserstoffsuperoxyd eine Rolle in der Kohlenstoffassimilation spielen soll.

Aus der activirenden Fähigkeit ausgetretener Säfte darf, wie schon hervorgehoben ist, in keiner Weise direct auf gleiche Thätigkeit in der lebenden Zelle geschlossen werden. Die von SCHÖNBEIN (l. c.) in dieser Richtung ausgesprochenen Vermuthungen sind verzeihlich, aber irrig, und ebenso die auf gleichem Boden stehenden

---

1) Ueber die chemische Seite vgl. HOPPE-SEYLER, Physiol. Chemie 1877, p. 126, 983; Zeitschrift f. physiol. Chemie 1886, Bd. X, p. 35; TRAUBE, Ber. d. chem. Ges. 1882, Bd. 15, p. 2425; 1882, Bd. 16, p. 1201; BAUMANN, l. c., p. 247. Die nicht übereinstimmenden Ansichten über die Modalitäten der Activirung des Sauerstoffs durch nascirenden Wasserstoff kommen für die physiologischen Fragen zunächst nicht in Betracht. Irgend welche haltbare Argumente für die Realität eines solchen Processes in der lebenden Zelle fehlen aber.

2) Vgl. PFEFFER, Pflanzenphysiologie I, p. 221.

Folgerungen Wurster's, denn auch dieser, welcher mit anderen Reagentien operirte, erhielt immer nur Reactionen der aus getödteten Zellen ausgetretenen Säfte (vgl. Cap. 10). Ebenso basirt Clermont's[1]) Annahme von Wasserstoffsuperoxyd in Pflanzen nur auf Schönbein's Reactionsmethoden in ausgepressten Säften, und da diese nicht immer activirten Sauerstoff anzeigen, so ist nicht zu verwundern, dass Bellucci[2]) auf gleichem Wege sich für Fehlen von Wasserstoffsuperoxyd entscheiden konnte.

Allerdings giebt es in der Literatur auch keine entscheidenden Belege gegen Vorkommen von activirtem Sauerstoff in der Zelle[3]). Denn solcher Mangel ist nicht aus Athmungstheorien zu beweisen, die den activirten Sauerstoff nicht bedürfen. Anderweitige Argumente Liebreich's stützen sich vornehmlich auf die Schädlichkeit und leichte Zersetzbarkeit des Ozons und auch des Wasserstoffsuperoxyds, können aber deshalb höchstens gegen eine Anhäufung dieser Körper, nicht aber gegen eine oxydirende, mit der Production fortdauernde Wirksamkeit im Organismus angeführt werden.

Auch die Versuche Bokorny's[4]) sind ohne Bedeutung. Denn bei Tödtung der Zelle, wie durch Chromsäure, erhält man nur Reactionen todter Zellen, und wenn, wie es scheint, an lebenden Spirogyren, die in verdünnter Jodkalilösung sich befanden, aus dem Ausbleiben einer Blaufärbung der intracellularen Stärkekörner auf Mangel von Wasserstoffsuperoxyd geschlossen wurde, so ist dabei kein Nachweis für Eindringen des Jodkaliums geliefert, das thatsächlich, so weit bekannt, seinen Weg in lebende Zellen nicht findet. Eben dieses gilt für Eisenvitriol, welches Bokorny zu einer Reaction in der gerbsäureführenden Zelle zu verwenden suchte.

Die Entstehung von Ozon ausserhalb der Pflanze, die in Cap. 10 nochmals kurze Erwähnung findet, berührt unsere Frage über Vorkommnisse in der Zelle nicht.

---

1) Compt. rend. 1875, Bd. 80, p. 1592.

2) Bericht. d. chem. Gesellschaft 1876, Bd. 9, p. 83, und 1879, Bd. 12, p. 136.

3) Dumas' (Ann. d. chim. et d. physique 1875, V. sér., Bd. 3, p. 92) kurze Angabe, dass sich bei Alkoholgährung kein Ozon bilde, hat keine Bedeutung.

4) Jahrb. f. wiss. Botanik 1886, Bd. 17, p. 351.

Aus den Versuchen Ehrlich's[1]) mit Indophenolblau und Alizarinblau, resp. deren Leukofarben, sowie mit Methylenblau weiss ich nicht zu entnehmen, ob die beobachteten Reductions- und Oxydationsvorgänge innerhalb des Protoplasmakörpers stattfanden, oder sich in Geweben, etwa in analoger Weise, wie die Reactionen an Schnittflächen von Pflanzentheilen abspielten. Uebrigens haben Wurster und Gad[2]) gezeigt, dass die Deutung der mit den beiden erstgenannten Farbstoffen erhaltenen Resultate nicht einwurfsfrei ist. Aus der Reduction von Methylenblau, welche nach Dreser[3]) die Epithelzellen in der Kaninchenniere erzielen sollen, würde höchstens auf Mangel von activirten Sauerstoff in diesen bestimmten Zellen zu schliessen sein, denn solche Reductionsthätigkeit mangelt, von Gährorganismen abgesehen, allen Pflanzenzellen.

VIII. Vitale und postmortale Oxydation.

Es ist lange bekannt, dass sich mit dem Tode viele Pflanzen, und ebenso deren ausgepresste, zunächst farblose Säfte, unter dem Einfluss des passiven Sauerstoffs mehr oder weniger tief färben, während sich der Zellinhalt im Leben farblos erhielt. Da sich aber thatsächlich passiver Sauerstoff bis in den Zellsaft reichlich findet, so ist nicht etwa der Mangel dieses, sondern die räumliche Trennung vom andern Stoffe die Ursache des Unterbleibens der Oxydationsfärbung im Leben. Mit dem Tode aber mischt sich der Zellsaft, in welchem wohl zumeist die Chromogene zu suchen sind, mit den übrigen Bestandtheilen der Zelle, und damit werden, und wohl nicht immer in derselben Weise, Bedingungen geschaffen, welche nun dem neutralen Sauerstoffmolekül eine Oxydation des Chromogens ermöglichen.

Dass in der That die Anwesenheit von gewissen vermittelnden Stoffen für die Oxydation eines Chromogens nöthig sein kann, hat

---

1) Das Sauerstoffbedürfniss d. Organismen 1885, p. 30, 72 u. s. w.; Deutsche medicinische Wochenschrift 1886, Nr. 4.

2) Vgl. diese Abhandlung p. 426.

3) Zeitschrift f. Biologie 1885, N. F., Bd. 3, p. 48, 54.

schon Schönbein[1]) für den an Schnitt- und Bruchflächen sich bläuenden Boletus luridus gezeigt. Das mit Alkohol ausgezogene Chromogen des Pilzes oxydirt sich nämlich für sich nicht an der Luft, wohl aber wird Oxydation durch Bläuung schnell angezeigt, sobald der für sich farblos bleibende frische Saft anderer Pilze hinzugefügt ist. Ebenso beruht die Fähigkeit vieler Pflanzensäfte Guajactinctur und Jodkalistärkepapier zu bläuen, auf dem Vorhandensein gewisser, die Activirung von Sauerstoff vermittelnder Körper, die, wie auch Schönbein[2]) darthat, durch Kochen unwirksam gemacht werden[3]). Auch hatten wir schon Gelegenheit, bei Behandlung der Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf die Bedeutung von gewissen Stoffen für Oxydationsvorgänge innerhalb und ausserhalb der lebenden Zelle hinzuweisen und darzuthun, wie offenbar nur das Fehlen geeigneter Vermittler es mit sich bringt, dass im Zellsaft der lebenden Zellen von Monotropa, und auch vieler Zellen von Faba, eine Oxydation nicht einmal durch Wasserstoffsuperoxyd erreicht wird, obgleich nach dem Tode die thatsächlich vorhandenen Chromogene durch den passiven Sauerstoff der Luft tief gefärbt werden (p. 409). Wenn aber selbst Wasserstoffsuperoxyd, und wohl gar nicht so selten, Chromogene unter den in der lebenden Zelle gebotenen Bedingungen nicht zu oxydiren vermag, so kann es nicht wundern, dass noch öfter der passive Sauerstoff Chromogene in der lebenden Zelle intact lässt.

Nachdem gezeigt wurde, dass Wasserstoffsuperoxyd, ohne Störung der Functionen, durch den Protoplasmakörper bis in den Zellsaft vorzudringen vermag, also in geringer Menge im Protoplasmakörper existenzfähig ist, kann es nicht verwundern, dass auch der neutrale Sauerstoff sich überall in der Zelle finden kann, und thatsächlich ist

---

1) Verhandlungen d. naturf. Gesellschaft in Basel 1857, Bd. I, p. 339. Ausführliches Referat in Botan. Ztg. 1856, p. 819.

2) Zeitschrift f. Biologie 1868, Bd. IV, p. 370.

3) Hierauf beruht es auch, dass nach Aufkochen Lathraea, Monotropa etc. sich nicht so leicht schwärzen und es empfiehlt sich diese Eigenschaft anzuwenden, um farblose Sammlungspräparate zu erhalten. Man bringt zu diesem Zwecke die Pflanzen kurz in kochendes Wasser, dem ein wenig Salzsäure zugesetzt ist, erneuert dann während 1 bis 2 Tagen das schwach säurehaltige Wasser einigemal und bringt die Objecte in 20 bis 30proc. Weingeist, dem etwa 0,5 % Salzsäure zugesetzt ist. Die Ansäuerung erschwert ebenfalls die Oxydation der meisten Chromogene (vgl. p. 410).

das normale Vorhandensein dieses letzteren in der lebensthätigen Zelle mit aller Schärfe nachzuweisen. Dieses Factum, und auch die besagte Existenzfähigkeit von Wasserstoffsuperoxyd, sind aber von fundamentalster Bedeutung für das richtige Verständniss der Causalität des Athmungsprocesses, auf welche wir erst zuletzt zu sprechen kommen.

Das Vorkommen von freiem Sauerstoff in der ganzen Zelle folgt unwiderruflich aus den früher von mir beigebrachten Argumenten[1]). Am auffälligsten demonstriren dessen Existenz im Zellsaft Räderthierchen, die sich gelegentlich im Zellsaft von Algen vorfinden, und ich hatte Gelegenheit inzwischen wiederum einmal ein Räderthierchen im Zellsaft einer Vaucheria zu finden und stellte von neuem fest, dass im Dunkeln dessen Bewegung während 2 Tagen fortdauerte. Dagegen hörte die Bewegung dieses Räderthierchens bald auf, als in einer Gaskammer die Luft durch Wasserstoff ersetzt wurde, kehrte aber bei sofortiger Neuzufuhr von Luft wieder. In gleichem Sinne beweisen im Innern lebender Zellen erwachsende Pilze das Vorhandensein von verathembarem Sauerstoff und ich erwähne z. B. den in jüngster Zeit von Beyerinck[2]) studirten streng aëroben Bacillus radicicola.

Weiter muss, wie ich ebenfalls früher hervorhob, bei lückenlosen Geweben der Sauerstoff im Ueberschuss in die umschliessenden Zellen eintreten, durch welche er seinen Weg zu den inneren Zellen zu nehmen hat, welche im Urmeristem und in ausgewachsenen Geweben durch Wachsen und Protoplasmaströmung für normale Athmungsthätigkeit Zeugniss ablegen. Endlich ist die unveränderte Kohlensäureproduction bei sehr weitgehenden Schwankungen im Sauerstoffgehalt der umgebenden Luft — der ohne nennenswerthen Einfluss zu üben etwa zwischen 3 und 200 % variiren kann[3]) — nur denkbar, indem schon bei geringer Menge von Sauerstoff dieser genügend in die Zelle gelangt, demgemäss aber im Ueberschuss eindringen muss, wenn bei Steigerung des Partiärdruckes in der Zeiteinheit so sehr viel mehr Moleküle an die Zelle anprallen.

---

1) Vgl. Unters. a. d. bot. Inst. in Tübingen, Bd. I, p. 684.
2) Bot. Zeitung 1888, p. 801.
3) Vgl. Cap. 11.

In der That konnten Zweifel nur unter irrigen Annahmen über die Oxydationsvorgänge in der lebenden Zelle entstehen. So geht Reinke[1]) von der unrichtigen Voraussetzung aus, dass die in der ausgepressten Saftmischung sich färbenden Chromogene auch in dem Zellsaft der lebendigen Zelle bei Präsenz von passivem Sauerstoff oxydirt werden müssten, und schliesst dann allein auf Grund dieser falschen Prämisse, dass aller Sauerstoff in der Peripherie des Protoplasmas im Athmungsprocess beschlagnahmt werde, also dieserhalb nicht bis in den Zellsaft gelange.

Natürlich kann in einer Zelle je nach Umständen der Sauerstoffgehalt sehr verschieden sein und im sauerstofffreien Raume sogar gänzlich schwinden. Demgemäss muss auch die Sauerstoffzufuhr so regulirbar sein, dass das consumirende Protoplasma nichts von diesem Körper bis zum Zellsaft gelangen lässt. Wenn wiederum in andern Fällen, und so bei Production von Sauerstoff in der Zelle, ein grosser Ueberschuss von Sauerstoff sich einstellen wird, so kann man doch keine Ausscheidung von Gasblasen dieserhalb erwarten. Denn die hohen Druckzustände in den Zellen führen, wie in der Sodawasserflasche, eine gesteigerte Löslichkeit der Gase herbei, deren Ausgabe nach aussen aber mit der einem höheren Partiärdruck entsprechenden Absorption verhältnissmässig steigt, so dass eine zur Ausscheidung von Gasblasen nöthige Uebersättigung normal wohl nie eintreten wird.

An dieser Stelle ist es nicht unsere Aufgabe, die Mittel und Wege zu erörtern, durch welche die Pflanzen genügend mit Sauerstoff versorgt werden und ebenso nicht der anaëroben Bacterien zu gedenken, welche den Sauerstoff ganz zu vermeiden haben. Der Mangel intramolekularer Athmungsthätigkeit in den unter normalen Verhältnissen vegetirenden Pflanzen lehrt aber, dass unter diesen Umständen die Pflanzen bis in interne Gewebe hinein genügend Sauerstoff für normale Athmungsthätigkeit zugeführt erhalten. Dabei kann allerdings die in einer Zelle vorhandene Sauerstoffmenge einem sehr geringen Partiärdruck entsprechen, da, was auch biologisch wichtig ist, ein solcher schon für den Unterhalt der Sauerstoffathmung genügt. Im sauerstofffreien Raume wird aber der in einer Pflanze

1) Botan. Zeitung 1883, p. 95, 98. Zeitschrift f. physiol. Chemie 1882, Bd. 6, p. 264. Vgl. Pfeffer, Unt. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. I, p. 683.

vorhandene Sauerstoff durch den erheblichen Consum in der Athmung und nöthigenfalls unter Mitwirkung der nach aussen gerichteten Diffusion bald verschwunden sein.

Die Absorptionsverhältnisse für Sauerstoff im Protoplasma und im Zellsaft sind noch unbekannt, und man kann nicht von vornherein behaupten, dass sie mit Wasser oder mit verdünnten Salzlösungen übereinstimmend sein müssen. Es würde auch in keiner Weise an unseren Schlussfolgerungen etwas ändern, wenn eine Bindung des Sauerstoffs stattfände, denn eine solche, wie sie im Blute Factum ist, bringt nur eine gewisse Anhäufung, aber keine Activirung des Sauerstoffs mit sich, die thatsächlich im Blute ebenfalls fehlt[1]). Die Unempfindlichkeit der Pflanzen gegen selbst sehr ansehnliche Mengen von Kohlenoxyd, welches durch Verdrängung des Sauerstoffs aus der Hämoglobinbindung so giftig für höhere Thiere wirkt, ist eine beachtenswerthe Thatsache, indess nicht im Stande, eine Bindung von Sauerstoff in der Pflanzenzelle zu widerlegen.

Vermag man im allgemeinen als eine Folge der Mischung zuvor räumlich getrennter Stoffe es wohl zu verstehen, dass mit dem Tode eintretende Oxydationen im Leben unterbleiben und ein Chromogen sich ungefärbt in der lebenden Zelle erhält, trotz der Gegenwart von Sauerstoff oder sogar, wie früher für manche Fälle gezeigt, trotz der Präsenz von Wasserstoffsuperoxyd, so wird doch erst ein weiteres Studium die in einem einzelnen Falle massgebenden Factoren aufzuhellen vermögen. Für solche Studien, die hier nicht in meinem Plane lagen, dürfte die Kenntniss der Eigenschaften des isolirten Chromogens vermuthlich den besten Schlüssel liefern. Hier sei nur daran erinnert, dass ein Chromogen an sich schon nicht autoxydabel (also dysoxydabel oder bradoxydabel)[2]) sein oder solche Resistenz gegen den passiven Sauerstoff erst durch Vereinigung mit bestimmten Körpern oder Stoffgemischen erlangen könnte. In beiden Fällen wird

1) Vgl. Hermann, Handbuch d. Physiologie 1882, Bd. IV, 2, p. 48, 94. Ebenda ist (p. 62) darauf hingewiesen, dass bei manchen wirbellosen Thieren das Hämoglobin durch andere Körper ersetzt sein dürfte.

2) Traube (Bericht. d. chem. Gesellschaft 1882, Bd. 15, p. 19) nennt autoxydabel einen Körper, welcher bei gewöhnlicher Temperatur durch passiven Sauerstoff oxydirt wird, dagegen bradoxydabel oder dysoxydabel (ebenda 1883, Bd. 16, p. 463) einen solchen, bei dem es zur Oxydation activirten Sauerstoffs bedarf.

aber für die so gegebenen Bedingungen eine Vermittelung nöthig, um eine Oxydation des Chromogens herbeizuführen. Solches wäre wiederum in sehr verschiedener Weise denkbar, denn es könnte sich beispielsweise um eine Sauerstoffübertragung, sei es mit oder ohne Activirung dieses, oder um Herbeiführung von Autoxydation des Chromogens handeln. Letzteres wird vielleicht für gewisse Chromogene durch Herstellung alkalischer Lösung erreicht, in welcher nachweislich manche Stoffe durch neutralen Sauerstoff oxydirt werden (vgl. p. 410).

Als Ursache für unterbleibende Färbung in lebenden Zellen kann die Existenz von Stoffen, welche durch Beschlagnahme des Sauerstoffs die Oxydation des Chromogens verhindern, für den Zellsaft nicht in Betracht kommen, denn solche Körper können bei Ueberschuss von Sauerstoff sich nicht erhalten. Ebenso ist bei solchem Sauerstoffüberschuss nicht daran zu denken, dass zwar dauernd das Chromogen den Sauerstoff spaltet, eine Oxydationsfärbung aber durch gleichzeitige fortwährende Reductionsthätigkeit nicht zur Erscheinung kommt. Ein Beweis gegen solche Reduction liegt ferner in der Erhaltung einer selbst geringen Anfärbung durch Wasserstoffsuperoxyd in dem Zellsaft von Faba, Trianea u. a. (vgl. p. 385). Nach dieser Thatsache kann man auch nicht daran denken, dass der neutrale Sauerstoff das Chromogen fortwährend, aber zu farblosen Producten verbrennt. Zudem findet in Faba (das Gleiche gilt für die durch Wasserstoffsuperoxyd entfärbten Blüthen) keine Neubildung des Chromogens statt, denn als nach der Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd ausgewachsene Zellen des Stengels während 20 Tagen weiter gelebt hatten, erzeugte neue Zufuhr dieses Reagens keine weitere Färbung im Zellsaft der lebenden Zellen. Diese und vielleicht viele Chromogene, und ebenso die Farben von Blüthen u. s. w., werden also anscheinend der Regel nach nicht weiter in den Stoffumsatz gezogen, dienen also auch normalerweise nicht als Athmungsmaterial im Protoplasma.

Nach den positiven Oxydationserfolgen mit Wasserstoffsuperoxyd scheinen die Chromogene, sowie bekanntlich die meisten gelösten Farbstoffe, sich zumeist im Zellsaft zu finden, und wenn mir für den Augenblick kein sicheres Vorkommen eines Chromogens im Protoplasma bekannt ist, so soll solches Vorkommen damit nicht geleugnet

werden[1]). Bei solcher Separirung der Chromogene im Zellsaft dürften wohl im Protoplasma diejenigen Stoffe sich finden, welche durch ihr Hinzutreten mit dem Tode die Oxydation des Chromogens herbeiführen, doch könnte natürlich auch Trennung nach Zellen vorkommen.

Zumeist scheint nicht, oder doch nicht allein, eine Reactionsänderung des Zellsaftes, sondern der Zutritt eines Oxydationsvermittlers für den Sauerstoffeingriff in das Chromogen entscheidend zu sein. Bei Faba wenigstens hatte eine Einwirkung von 0,1- und 1 proc. Lösung von Ammoncarbonat keine merkliche Färbung im Zellsaft zur Folge, so lange die Zellen lebendig waren. Alkalische Reaction dürfte also, wie in ausgepressten Säften, nur eine wesentliche Beschleunigung der Oxydation, wenigstens gegenüber schwach sauren oder neutralen Säften erzielen (p. 410). Die Existenz von Körpern aber in ausgepressten Pflanzensäften, welche sowohl gegenüber bestimmten natürlich vorkommenden Chromogenen, als gegenüber Reagentien sich als Oxydationsvermittler zu erkennen geben, und diese Eigenschaft durch Aufkochen verlieren, hat schon Schönbein nachgewiesen, wie oben bereits mitgetheilt ist.

Aus dieser kurzen Discussion ergeben sich für den Nachdenkenden auch Mittel und Wege, um die hier in Betracht kommenden Fragen im Näheren aufzuhellen. Vielleicht kann bei diesen Studien über die Ursachen der Nichtoxydation der Chromogene in lebenden Zellen, ebenso wie bei gleichen Studien hinsichtlich des Wasserstoffsuperoxyds, die künstliche Einführung von bestimmten Stoffen Bedeutung gewinnen und es ist ja sogar möglich, in Myxomyceten feste, activirende Körper, wie z. B. Platinmohr, zu bringen.

Ob durch bestimmte äussere Bedingungen eine Oxydation der Chromogene oder Farbstoffe durch passiven Sauerstoff in der lebenden Pflanze erzielbar ist, wurde nicht näher untersucht. Einige früher (p. 434) mitgetheilte Versuche ergaben negatives Resultat, so auch bei Erhöhung der Temperatur. Indess ist nicht ausgeschlossen, dass ausgedehntere Versuche auch zu anderen Erfahrungen führen und

1) Für das Chromogen, das in den Plasmodien von Aethalium septicum vorzukommen scheint (Reinke, Zeitschrift f. physiol. Chemie 1882, Bd. 6, p. 276), ist noch unerwiesen, ob dessen Sitz im Protoplasma selbst oder in den zahlreich eingestreuten kleinen Vacuolen zu suchen ist.

es könnte ja nicht überraschen, wenn erst mit gesteigerter Temperatur gewisse Körper zur Spaltung des passiven Sauerstoffs befähigt würden.

Durch normale Beleuchtungsverhältnisse werden die von uns beobachteten Chromogene und Farbstoffe in der lebenden Zelle nicht oxydirt, denn bei dem Verbleiben dieser Reaction würde sich dieses in Färben, resp. Entfärben geltend machen. Doch mag es wohl Ausnahmen geben und ich muss z. B. dahin gestellt lassen, ob die in manchen Pflanzen durch Beleuchtung erzielbaren Färbungen die Folge einer vom Licht veranlassten Oxydationswirkung sind. Dass Beleuchtung vielfach Oxydationen in todten Massen veranlasst oder beschleunigt, ist ja wohl bekannt, und wir hatten z. B. schon Veranlassung, darauf hinzuweisen, dass Cyanin in wässriger Lösung, aber auch nach Imbibition in das Protoplasma, durch Licht in Folge von Oxydation entfärbt wird (p. 419). Uebrigens ruft normale Beleuchtung gewöhnlich keine auffälligen Verbrennungen in der lebenden Pflanze hervor, da Bonnier und Mangin[1]) in belichteten chlorophyllfreien Pflanzen sogar eine gewisse Verminderung der Athmungsthätigkeit fanden.

Im concentrirten Sonnenlicht vermochte dagegen Pringsheim[2]) durch eine vom Sauerstoff abhängige Oxydation z. B. Chlorophyllkörper und den blauen Zellsaft der Staubfadenhaare von Tradescantia zu entfärben. Diese letztgenannte Oxydation unterbleibt aber in gewöhnlichen Beleuchtungsverhältnissen, denn die Staubfadenhaare von Tradescantia bewahren ihre Färbung, obgleich sie den oxydirten Farbstoff nicht zu regeneriren vermögen.

Ich hatte keine Veranlassung, die excessiv gesteigerte Lichtwirkung mit Rücksicht auf unsere Fragen zu studiren, und lasse dahin gestellt, ob die damit erzielten Erfolge zu Wege kommen, indem allein in den zu oxydirenden Körpern gesteigerte intramolekulare Bewegungen eintreten, oder indem zugleich der molekulare Verband im Sauerstoffmolekül etwas gelockert wird.

1) Annal. d. scienc. naturell. 1884, VI. sér., Bd. 17, p. 274 u. Bd. 18, p. 314.

2) Jahrb. f. wiss. Botanik 1879—81, Bd. 12, p. 340, 348, 351, 369 u. s. w.

IX. Einige Bemerkungen über functionelle Arbeitstheilung.

Zum Verständniss des Verhaltens der Chromogene und überhaupt für physiologische Vorgänge, ist die räumliche Trennung der Stoffe und allgemein die Arbeitstheilung in der Zelle stets wohl zu beachten. Obgleich solche Anforderung schon durch die Elemente der Zellenlehre, und z. B. anschaulichst durch die Thatsache gefordert wird, dass gewöhnlich gelöste Farbstoffe allein im Zellsaft sich finden, werden dennoch häufig die chemischen oder physikalischen Eigenschaften ausgepresster Säfte schlechthin als Maassstab für die Constitution der Lösungen in der lebendigen Zelle genommen. Damit verfährt man aber thatsächlich wie ein Chemiker, der die Eigenschaften einer Lösung noch als unverändert ansieht, nachdem er verschiedene, theilweise in Umsetzungen tretende Stoffe beigemischt hat, denn es ändert natürlich nichts an der Sachlage, dass die in jeder einzelnen lebenden Zelle separirten Massen eine makroskopisch wahrnehmbare Grösse nicht erreichen. Bei solcher Sachlage dürfte es nicht ungerechtfertigt sein, die aus der Arbeitstheilung in der Zelle entspringenden complicirten Verhältnisse hier ein wenig anzudeuten.

Bei Mangel von directer Wahrnehmbarkeit oder bei Mangel an Reagentien, die ohne Tödtung verwendbar sind, ist es freilich nicht immer möglich, die Vertheilung eines Stoffes in der lebenden Zelle zu präcisiren; indess darf doch dieserhalb nie vergessen werden, dass Zellsaft und Protoplasma thatsächlich räumlich getrennte Laboratorien sind. Von diesen ist die Vacuolenflüssigkeit (der Zellsaft) ein an sich todtes Organ in dem eigentlichen lebendigen Organismus, das aber unter mannigfacher Wechselwirkung mit dem Protoplasmaorganismus besondere Functionen im Dienste des Lebens zu vollbringen hat. Dieserhalb kommt zwar der Vacuolenflüssigkeit keine Stabilität zu, aber da dieselbe, abgesehen von festen Ausscheidungen, eine homogene Lösung ist, so bietet sie unendlich einfachere Verhältnisse dar, als der Protoplasmakörper. Denn dieser Elementarorganismus ist ebensogut aus differenzirten Organen aufgebaut, wie eine Schnecke oder irgend ein anderes lebendiges Wesen, und so

sind in ihm mit andern complicirten Einrichtungen auch räumliche Trennungen von Stoffen vereinigt. An dem Wesen dieser Sachlage wird nichts geändert, wenn in derselben Zelle verschiedene von einander getrennte Vacuolen mit ungleichem Inhalt sich vorfinden, wie solches bei Gegenwart von Gerbsäure- oder Farbstoffbläschen der Fall ist und für die zum Theil winzigen, vom Zellsaft getrennten Vacuolen im Protoplasmaleibe häufiger der Fall sein dürfte.

In dem Zellsaft sind demgemäss statische Zustände und Veränderungen ebenso wie in einer homogenen Lösung zu beurtheilen, aber allerdings mit sorgfältiger Berücksichtigung der besonderen Umstände. Abgesehen davon, dass der Zellsaft stets ein Gemisch verschiedener Stoffe ist, werden in ihm in Folge der mannigfachen Wechselwirkungen mit dem lebendigen Protoplasten, so z. B. durch Zuführung und Hinwegnahme von Körpern, verschiedene Processe eingeleitet oder fortgeführt. So ist u. a. von höchster Bedeutung, dass durch Diosmose und theilweise in Abhängigkeit von den veränderlichen Functionen im Protoplasma, einzelne Producte einer Reaction dem Zellsaft entzogen werden können und dieses, sowie aller Austausch, verhältnissmässig sehr schnell möglich ist, weil die diosmotisch thätige Oberfläche bei dem absolut geringen Volumen des Zellsaftes natürlich relativ sehr ansehnlich ist[1]). Voraussichtlich entspringen aus den geringen Dimensionen des Vacuolenraumes wohl noch andere Eigenthümlichkeiten, und in jedem Falle ist der hohe Druck zu beachten, unter welchem, in Folge osmotischer Leistungen, die Flüssigkeit des Zellsaftes steht.

Mischungen und Reactionen im Reagensrohre können deshalb nicht schlechthin und in jedem Falle als Maassstab für die Eigenschaften und Umsetzungen im Zellsaft dienen. Da aber eine Isolirung dieses, ohne Tödtung und also ohne Beimischung von Stoffen aus dem Protoplasma, noch nicht ausgeführt wurde, da ferner die stoffliche Zusammensetzung der Vacuolenflüssigkeit nicht einmal qualitativ, geschweige denn quantitativ vollständig bekannt ist, so ist es zunächst

1) Die im Verhältniss zum Volumen grosse Oberfläche ist auch für kleine Organismen zu beachten, so z. B. für Hefe und Bacterien, die für die Flächeneinheit gar keinen so grossen Stoffaustausch entwickeln müssen, um bei Zusammenwirken grösserer Mengen dieser Organismen sehr ansehnliche Stoffmengen aufnehmen und ausscheiden zu können.

geboten, aus dem Studium an lebenden Pflanzen Eigenschaften und Vorgänge im Zellsaft zu ermitteln.

Für diese Aufgabe aber sind alle an sich sichtbaren oder sichtbar zu machenden Eigenschaften und Veränderungen in der Vacuolenflüssigkeit von wesentlichster Bedeutung[1]). In diesem Sinne sind auch die Chromogene, welche im Leben nicht durch den neutralen Sauerstoff oxydirt werden, Reagentien und ebenso sind es alle fassbaren Vorgänge, die erst mit dem Tode eingeleitet werden. Dahin gehört u. a. die Ausscheidung des im Leben gelösten Inulins oder Hesperidins mit dem Tode, die gelegentliche Uebersättigung mit Asparagin, ferner gehören z. B. hierher wirkungsfähige Enzyme oder zerspaltbare Glycoside, deren nähere Vertheilung in der Zelle freilich zumeist noch zu ermitteln ist. Weiter sind natürlich vorkommende oder künstlich einführbare Farbstoffe bedeutungsvoll als Indicien für die Reactionsverhältnisse oder auch für andere Zwecke. Indem ich mich mit diesen Hinweisen begnüge, möchte ich noch bemerken, dass die bereits zur Verfügung stehenden Mittel noch keineswegs in besagtem Sinne ausgenutzt und sicher noch viele anwendbare Mittel aufzufinden sind.

Die Rückführung der Vorgänge im Zellsaft auf die causalen Bedingungen ist deshalb nach dem Gesagten keineswegs eine leichte Aufgabe. Ein tieferes Eindringen aber wird auch gewichtige Rückschlüsse auf Functionen im Protoplasma gewähren. Eine vollständige Aufhellung aller vitalen Vorgänge freilich kann auch die vollständigste Einsichtnahme in die Gesammtheit der Processe im Zellsaft niemals liefern, denn die Wirkungen, welche der Zellsaft von Seiten des Protoplasmakörpers erfährt, entspringen sicher oft als Folgen verwickelter Processe in diesem, die z. B. die nackte Thatsache der Secretion eines Productes aus dem Protoplasma nicht zu durchschauen erlaubt. Die Frage, warum der Zellsaft — den man als ein Organ im lebendigen Organismus auch ruhig lebenden Zellsaft nennen darf — während des Lebens besondere Verhältnisse bietet, ist nur ein Theil der allgemeinen Frage, warum überhaupt mit dem Tode die Organismen

---

1) Vgl. hierüber PFEFFER, Pflanzenphysiologie Bd. I, p. 316. Hier ist auch in Anmerkg. 7 der Nachweis für die gelegentliche Uebersättigung mit Asparagin mitgetheilt.

anderen Umsetzungen anheimfallen, denen sie im Leben widerstanden. Ueber diese Vorgänge, zu welchen auch Fäulniss und Verwesung gehören, wundert man sich wohl gewöhnlich deshalb nicht, weil man sie als etwas erfahrungsgemäss Selbstverständliches ansieht. Factisch aber würde eine vollständige Rückführung auf die letzten Gründe — nicht etwa nur auf complexe Grössen, wie es schon jetzt möglich ist — die Erkenntniss der wesentlichen Eigenschaften und Bedingungen des lebendigen Zustandes nöthig machen, ein Ziel, dessen Erreichung für die nächsten Zeiten wir leider noch nicht erhoffen dürfen.

Wie schon gesagt, liegen in der Lösung der Vacuolenflüssigkeit die Verhältnisse unendlich einfacher, als im lebenden Protoplasma. Denn dieses ist ein zusammengesetzter Organismus, dessen Glieder sicherlich verschiedene Functionen vollziehen, aus deren Zusammengreifen die Gesammtleistungen der lebendigen Protoplasten resultiren. Dass dem so ist, geht unzweifelhaft aus der wahrnehmbaren Existenz distincter Gliederung hervor, wie sie durch Zellkern, Chromatophoren, Mikrosomen, Hautschicht und andere Structurverhältnisse gekennzeichnet wird, und dieser allgemeine Schluss ist ganz unabhängig von den näheren Verhältnissen in der functionellen Arbeitstheilung und den weiteren Eigenschaften des Ganzen und seiner einzelnen Glieder.

Schon bei anderer Gelegenheit[1]) wies ich darauf hin, wie man sich wohl Zusammenfügung und Zusammenwirken im Protoplasma an unserem Planetensystem versinnlichen kann. In diesem verändern ebenfalls die einzelnen Glieder ihre räumliche Lagerung und bleiben doch in gesetzmässigem Zusammenhalt und als einheitliches Ganzes nach aussen bestehen. Ferner ist jeder Planet ein specifisch eigenthümlicher Körper, in welchem sich an der Oberfläche und im Innern die mannigfachsten Veränderungen dauernd vollziehen können. Ebenso sind auch die Glieder des lebendigen Protoplasmaleibes selbst complicirt aufgebaute Körper[2]), in denen in verhältnissmässig noch viel

1) Unters. a. d. botan. Institut in Tübingen Bd. II. p. 316.

2) Es ist damit auch ausgesprochen, dass die Zergliederung von Organen erst in letzter Instanz auf Micellen oder Moleküle führt, zuvor aber auf Complexe höherer Ordnung führen kann, die in einem analogen Sinne, wie die sichtbaren Theile des Protoplasmakörpers, Organe im Organ sind.

höherem Grade Umwandlungen, und zum Theil solche tiefgreifendster Art, vor sich gehen, Vorgänge, die theilweise direct, wie z. B. am Zellkern, durch gestaltliche Aenderungen und allgemein auch durch Thätigkeit und Vermehrung oder auch Verschwinden gekennzeichnet werden. Dazu kommt für den Mikrokosmos der lebenden Zelle die Zusammenführung der Theile auf kleinen Raum, mit allen sich daran schliessenden Consequenzen in Betracht. Und bei der geringen Grösse schon vieler der sichtbaren Organelemente ist es eher wahrscheinlich, dass auch vorübergehend oder dauernd Molekülcomplexe oder auch höher differenzirte Theile als functionirende Organe auftreten, deren Dimensionen die Grenze optischer Wahrnehmbarkeit nicht erreichen. Deshalb müssen solche Organelemente noch nicht verschwindend klein gegenüber einer kleinen Zelle sein, und wenn man z. B. im Verhältniss dieser, gegenüber dem Volumen eines grossen Säugethieres, die Blutkörperchen dieses letzteren sich verkleinert denkt, so würden dieselben unter die Grenze optischer Wahrnehmbarkeit (= $\frac{1}{2}$ Wellenlänge des angewandten Lichtes) sinken. Und können Organe in einer kleinen Zelle überhaupt nur von geringen Dimensionen sein, so sind dieselben deshalb doch nicht minder wesentlich und bedeutungsvoll, wenn auch functionell von anderem Werthe, als die grösseren und kleineren Organe in ansehnlicheren Organismen.

Eine physiologische Behandlung des Protoplasten als homogene Masse steht in ganz directem Widerspruch mit sicheren Thatsachen und ist ebenso fehlerhaft, als etwa das Bestreben, das Wesen und die Thätigkeit einer Uhr allein aus Qualität und Quantität eines Metallgemisches erklären zu wollen. Ebenso wie eine Uhr mit dem Zusammenstampfen aufhört ein leistungsfähiger Mechanismus zu sein, ist auch mit der Zerstörung der zur functionellen Thätigkeit nothwendigen Anordnung der Theile die Fortdauer lebendiger Thätigkeit des Protoplasmakörpers unmöglich. Dennoch sind, wenn man z. B. ein vacuolenfreies Protoplasma im Mörser sich zerrieben und gemischt denkt, die chemischen Bestandtheile der Qualität und Quantität nach vereinigt geblieben und diese einfache Erwägung mag am besten darthun, wie ganz verkehrt es ist, allein aus chemischer Qualität und Quantität der aufbauenden Stoffe eine Erklärung der Eigenschaften des lebendigen Protoplasmas zu erhoffen. Wie in jedem Mechanismus kommt es auch im Protoplasma auf Bau und Eigen-

schaften der einzelnen Theile und auf ihr gesetzmässiges Zusammengreifen an, aber allerdings spielt im Organismus die chemische Qualität noch eine wesentlich andere Rolle, als in der Uhr, die ja thatsächlich aus verschiedenem Metall hergestellt werden kann. Denn das Constructionsmaterial ist in dem Organismus durch seine chemischen Eigenschaften mitbestimmend für den Aufbau in den Organen und somit in dem ganzen Protoplasten und ebenso für die Veränderungen, welche eine Zelle im Laufe ihres Lebens durchzumachen hat.

So wie man aber bestrebt sein muss, die Vorgänge in der Pflanze zunächst auf die Functionen der einzelnen complexen Organe und endlich der Zellen zurückzuführen und aus deren Zusammengreifen zu erklären, so wie man weiter dann die complexe Zellenfunction in das Zusammenwirken der näheren Bauelemente, also des Protoplasmas, des Zellsafts und der Zellhaut zu zerlegen hat, so muss ebenso das Streben dahin gehen, die complexen Functionen des Protoplasmakörpers aus Thätigkeit und Zusammenwirken der einzelnen Theile dieses verstehen zu lernen[1]). Nur auf diesem Wege kann man hoffen, die Causalität der so wunderbaren Leistungen des Protoplasten mehr und mehr aufzuhellen, und da von dem Protoplasmaorganismus überhaupt alle Lebensfunctionen abhängen, so ist in dem soeben klar vorgezeichneten Ziele eine der höchsten, aber auch schwierigsten physiologischen Aufgaben gekennzeichnet.

Mit Sicherheit darf man annehmen, dass wie so viele Leistungen des Organismus, so auch die uns entgegentretenden Functionen des lebendigen Protoplasten sehr oft nicht einem einzelnen Acte, sondern einer Verkettung von Processen entspringen, welche zu ihrer Durchführung der gleichzeitigen oder successiven Mithülfe verschiedener Organe im Protoplasma bedürfen. Kennt man aber unter solchen Umständen nur die Anfangs- und Endglieder, so hat man in den Verlauf der Vorgänge ebensowenig eine Einsicht, wie etwa in die mannigfachen Operationen einer Fabrik, von der wir nur constatiren können, dass Theer eingeführt und Farbstoffe nebst anderen Producten herausgeführt werden, während jeder Einblick in das Innere verschlossen ist. Auch in einer solchen Fabrik haben viele Menschen und in deren Dienste sehr mannigfache Operationen der Reihe nach

1) Vgl. Pfeffer, Pflanzenphysiologie Bd. I, p. 2.

zu wirken, um die endlichen Producte herzustellen und zur Veranschaulichung des Princips wenigstens, kann dieses Beispiel immerhin dienen, wenn es auch naturgemäss nicht alle dem Rechnung trägt, was im lebendigen Organismus in Betracht zu ziehen ist.

Unsere Kenntnisse über die functionelle Bedeutung der Organe im Protoplasmakörper sind freilich noch nicht weit gediehen. Mit Sicherheit sind die Chlorophyllkörper, bis zu gewissem Grade auch die Stärkebildner, als Organe bestimmter Function gekennzeichnet und die Hautschicht (Plasmahaut, Vacuolenwand) lernte ich vor Jahren als das Organ kennen, von welchem der diosmotische Austausch mit dem Zellsaft und der Aussenwelt abhängt[1]). Vom Zellkern weiss man, wenn man einen strengen Maassstab anlegt, nur, dass er ein wichtiges und unentbehrliches Organ ist[2]), mit dessen Mangel die Gesammtheit oder einzelne der nothwendigen Functionen nicht mehr realisirt werden. Welche Aufgaben speciell den Mikrosomen[3]), die augenscheinlich verschiedenartig sind, und anderen distincten und nicht weiter differenzirten Theilen des Protoplasmas zufallen, ist unbekannt. Bei der derzeitigen Sachlage aber ist es wichtig, das Nichtwissen zu bekennen und dadurch sich zum denkenden Studium hinreissen zu lassen und nicht aufblitzende Gedanken zu Hypothesen zu stempeln, deren sich leicht ein halbes Dutzend zurecht machen liesse. Auch die Studien über Oxydationsvorgänge ergaben keine bestimmten Anhaltspunkte, ob jene, die so ausgiebig in der Athmung sich abspielen, in bestimmten Theilen des Protoplasmakörpers vorwiegend von statten gehen. In dieser Richtung folgt natürlich nichts daraus, dass bei Trianea Cyanin vorwiegend

1) Vgl. Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. II, p. 315.

2) Es gilt das auch hinsichtlich der Sexualität und der sich anschliessenden Fragen über Vererbung, denn ein wirklicher, causaler Einblick in die Rolle des Zellkerns ist leider noch nicht gewonnen.

3) Die Bezeichnung »Mikrosom« ist für mich nur ein Collectivbegriff für die bekannten kleinen Körperchen im Protoplasma, die voraussichtlich in Aufbau und Bedeutung verschiedenartig und vielleicht sogar sehr heterogener Natur sein dürften. (Vgl. u. a. Unters. a. d. Tübinger Institut Bd. II, p. 273.) Theilweise aber dürften diese Körperchen Bauelemente des Protoplasten sein, nur ist es freilich schwer und vielleicht nicht immer möglich, sie von metaplasmatischen Massentheilen zu unterscheiden, die man freilich besser von den Mikrosomen getrennt halten würde.

in den Mikrosomen gespeichert wird und demgemäss in diesen bei Zutritt von Wasserstoffsuperoxyd die ausgiebigste Oxydation bezüglich dieses Farbstoffs eintritt.

Für das tiefere Eindringen in die gekennzeichneten Fragen sind die morphologischen Gestaltungen in der ruhenden und wachsenden Zelle und ebenso die physiologischen Functionen des Gesammtkörpers unerlässliche Fundamente. Aber nur indem sich beide gegenseitig in bestimmter Fragestellung unterstützen und ferner indem aus irgend welchen sichtbaren Vorgängen die Localisirung von Processen im Protoplasma gekennzeichnet wird, sind wirkliche Fortschritte in diesen Fragen zu erwarten.

Zu einem richtigen Verständniss der Functionen im lebendigen Organismus ist noch ganz besonders zu beachten, dass nicht etwa durch vorübergehende stürmische Reactionen, sondern gerade durch continuirlich fortschreitende Thätigkeit die grössten Leistungen erreicht werden. Es ist das unmittelbar in dem allmählichen, aber stetigen Verlauf des ganzen Entwickelungsganges ausgesprochen und gilt auch für einzelne Thätigkeiten, die uns als chemische Umsetzungen oder als irgend andere Leistungen entgegentreten. Solche im Augenblicke geringe, aber durch Ausdauer mächtig anschwellende Erfolge, treten u. a. auch in den Stoffumwandlungen klar hervor, in denen Zerlegen und Zusammenfügen in mannigfacher und wohl oft recht verwickelter Weise sich im Organismus abspielt. So werden wohl öfters die auf einander reagirenden Körper nur successiv geschaffen oder für allmähliches Zusammentreffen ist durch anderweitige Verhältnisse gesorgt und neben anderen Modalitäten spielt mit Sicherheit oft das Fortschaffen eines oder einiger der Reactionsproducte eine hervorragende Rolle. Denn so weit sich übersehen lässt, sind viele Processe im Organismus von der Art, dass die an sich partielle Reaction nur bei Fortschaffung eines Productes weiterschreitet und bis zur Totalität geführt werden kann. Dieser Bedingung für Continuität ist natürlich ebensowohl genügt, wenn das hemmende Product am Entstehungsorte selbst oder räumlich getrennt von diesem, consumirt oder auch zunächst durch Diosmose aus dem Protoplasma oder Zellsaft entfernt wird. In diesen und anderen Fähigkeiten stehen in der lebenden Zelle aber Mittel zur Verfügung, welche in einfachen chemischen Proceduren gar nicht oder doch nicht entfernt

in solcher Mannigfaltigkeit und in solchem Zusammenwirken in Anwendung kommen.

Ein dem benannten Princip entsprechendes Zusammengreifen ist bei der Gleichzeitigkeit vieler Processe und bei der Arbeitstheilung schon innerhalb des Protoplasmas nicht nur möglich, sondern auch sicher thätig. Leichter zu durchschauen sind zusammengesetzte Processe im Allgemeinen bei räumlicher Trennung, und anknüpfend an die diosmotisch vermittelte Auseinanderführung von Stoffen habe ich wiederholt auf die sehr hervorragende und vielseitige Bedeutung des auch für die chemische Statik hochwichtigen Princips der Massenwirkung für die Functionen im lebendigen Organismus hingewiesen[1]. Ein solcher Vorgang liess sich auch vollständig durchsichtig demonstriren, denn es gelang, Methylenblau durch Einwirkung von Citronensäure und diosmotische Entziehung des citronsauren Farbstoffs, gänzlich aus lebenden Zellen zu entfernen, obgleich die gespeicherte Methylenblauverbindung durch Citronensäure nur partiell zersetzt wird.

Die hohe Bedeutung und Zweckmässigkeit der in gegenseitiger Abhängigkeit von einander sich abspielenden Vorgänge liegt für den Organismus in den daraus sich ergebenden Selbstregulationen. Denn um bei den chemischen Umsetzungen zu bleiben, wenn der Consum eines Productes für die Fortführung eines Processes nothwendig ist, so steht ja dieser stille, sobald mit Aufhören des Verbrauchs die Bedingung für weiteres Fortschreiten hinweggenommen ist, und so regelt also der Verbrauch die Umsetzung in einer dem Bedürfniss entsprechenden Weise. Dem Wesen der Sache nach bleibt solches Verhältniss auch dann bestehen, wenn, zur Vermittelung dieser gegenseitigen Regulation, also für die mechanische Ausführung in irgend welcher Weise auslösende Reizwirkungen oder anderweitige verwickelte Verhältnisse eine Rolle spielen.

Durch diese Erörterungen sollte allgemein betont werden, was ebenso für die in dieser Abhandlung berührten bezüglichen Fragen gilt, dass zur richtigen Auffassung physiologischer Vorgänge das sorgfältige und allseitige Abwägen der in der lebenden Zelle gebote-

1) PFEFFER, Pflanzenphysiol. Bd. I, p. 313; Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. II, p. 293.

nen Verhältnisse durchaus unerlässlich ist, und es ist damit natürlich nicht ausgeschlossen, dass auch ohne solche Rücksichtnahme eine Einsicht in einzelne Processe möglich ist. Natürlich bleiben in jedem Falle die chemischen und physikalischen Erfahrungen an todten Massen Fundamente, mit denen die Physiologie zu operiren hat, deren Eigenheit und Selbständigkeit aber durch die Besonderheiten des lebenden Wesens bedingt ist. Eben dieser besonderen Bedingungen halber können chemische Umsetzungen — um speciell an diesen zu bleiben — in besonderer Weise sich abspielen und es ist ja in keinem Falle gesagt, dass zur Erzielung gleicher Producte aus demselben Ausgangsmaterial immer dieselbe Kette von Operationen nothwendig ist.

Die obigen Erwägungen hielten sich sachgemäss an die ausgebildete und in einem bestimmten Sinne arbeitsthätige Zelle, in welcher zwar, wie schon hervorgehoben ist, die einzelnen Organe und Bausteine nicht unveränderte Qualität bewahren müssen, in der aber doch eine relative Stabilität besteht im Vergleich zu einer sich noch ausgestaltenden und ihre Function allmählich verändernden Zelle. In solchem stetigen Wechsel treten uns neue Fragen und Verwickelungen entgegen und es dürfte deshalb eine in constanter Function, also im statischen Zustand verharrenden Zelle, vielfach der auf Causalität zielenden Forschung geringere Schwierigkeiten bieten.

Indem wir den Organismus als gegeben hinnehmen, können wir in den zunächst auf Stoffwechsel und Kraftwechsel bezüglichen Aufgaben diejenigen wichtigen Fragen ausser Acht lassen, welche die causale Entstehung und erbliche Erhaltung des Organismus und seiner Theile in den jeweiligen specifischen Qualitäten zum Vorwurf haben[1]). Allerdings dürfen auch diese Fragen nie aus dem Gesichtskreis des Forschers entschwinden, wenn auch in dem durch bestimmte Aufgaben gestellten Studium eine weise Einschränkung auf nächste erreichbare Ziele unvermeidlich geboten ist. Es ist ja auch selbstverständlich, dass eine Einsichtnahme innerhalb der angedeuteten Grenzen möglich ist, ohne dass man die Entstehungsgeschichte derjenigen Organe kennt, deren Functionen zu ermitteln sind. Ebenso wie für die ganzen Pflanzen gelten diese allgemeinen Erwägungen

1) Vgl. z. B. Pfeffer, Pflanzenphysiologie Bd. I, p. 6.

auch für die einzelne Zelle und ihre Glieder[1]). Auch in dieser handelt es sich ebensowohl, wie in der ganzen Pflanze, um einheitliches Zusammenwirken der in gegenseitiger Abhängigkeit stehenden Organe, und dieses Ziel wird offenbar theilweise durch dynamische oder materielle Einwirkungen nach mechanischen Aequivalenten oder durch auslösende Actionen auch innerhalb der einzelnen Zelle erreicht[2]).

Die einfachsten und bei unseren heutigen Kenntnissen durch-

1) Für Zellkern und Chlorophyllkörper ist bekanntlich festgestellt, dass sie, so weit bekannt, nur als Descendenten ihres Gleichen entstehen. Hinsichtlich der Plasmahaut und der Vacuolen liegt die Sache wesentlich noch so, wie ich sie vor nicht langer Zeit darlegte (Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen, Bd. II, p. 319). Es scheint hiernach, dass diese Organe auch aus den zu anderen Functionen anpassbaren Theilen des Protoplasmas entstehen können. Jedenfalls haben WENT's Untersuchungen nicht das Gegentheil bewiesen (Jahrb. f. wiss. Botanik Bd. XIX, p. 295). Denn aus der Thatsache der Theilung (die übrigens bei normaler Zelltheilung für ansehnlichen Zellsaft eine Nothwendigkeit ist) und aus der allgemeinen Existenz kleinerer Vacuolen in den Protoplasten (die meines Wissens auch bisher wenigstens nicht geleugnet ist) folgt doch nicht, dass Vacuolen, ohne Theilung, nicht neu entstehen können. Und wenn solche Neubildungen auch nur beschränkt eintreten, die Theilung aber der gewöhnliche Vermehrungsmodus sein sollte, wäre dennoch die Frage in dem oben angedeuteten Sinne und also gegen WENT's Annahme entschieden. Gerade diesen Cardinalpunkt hat WENT nicht in Erwägung gezogen. Thatsächlich kann man aber durch Aufnahme von festen Leimstückchen, die mit Indigcarmin gefärbt sind (wie ich l. c. p. 322 mittheilte), in Myxomyceten kleine Vacuolen erzeugen, und diese können doch dann nicht wohl aus präexistirenden Vacuolen ihren Ursprung nehmen, wenn schon die Leimstückchen grösser als diese sind. Da diese blauen Vacuolen sich im lebenden Protoplasma längere Zeit erhalten, auch gegen letzteres, soweit das zu beurtheilen ist, ebenso abgegrenzt sind, wie andere Vacuolen, so ist gewiss kein Grund, sie, einer Theorie zu Gefallen, als pathologische Producte anzusehen. — Viel leichter gelingt die Erzeugung solcher Vacuolen, indem man Kryställchen von Calciumsulfat aufnehmen lässt.

Uebrigens habe ich hier nicht die Absicht, näher auf diese Fragen einzugehen. Anschliessend möchte ich nur bemerken, dass der Uebergang kleiner Vacuolen und ihrer Inhalte in den Zellsaft thatsächlich eine Ausstossung aus dem Protoplasma ist, die WAKKER (Jahrb. f. wiss. Bot. XIX, p. 423) wenigstens für feste Körper ausschliessen möchte. Es wäre aber doch wunderbar, wenn solche in den Myxomyceten bekanntlich in so hohem Grade ausgebildete Fähigkeit für Aufnahme und Ausgabe fester Partikel in den von Zellhaut umschlossenen Protoplasten ganz und gar fehlte. (Vgl. übrigens PFEFFER, Unters. a. d. bot. Institut Tüb. Bd. II, p. 297.)

2) Vgl. PFEFFER, Pflanzenphysiol. Bd. I, p. 4.

sichtigsten Wechselwirkungen bieten uns die Chlorophyllkörper, welche ebensowohl für den sie beherbergenden Protoplasten, als auch für alle nicht grünen Zellen derselben Pflanze und endlich auf directerem oder indirectem Wege für alle lebendigen Organismen die organische Nahrung zu liefern haben. In dem eignen Protoplasten leisten die Chlorophyllkörper in ernährungsphysiologischer Hinsicht wesentlich dasselbe, wie die in manchen Infusorien symbiotisch angesiedelten einzelligen Algen, und sind diese auch selbständige, zu freiem Leben befähigte Organismen, so haben doch die Chlorophyllkörper auch nur die Fähigkeit aus ihres Gleichen (d. h. aus Chromatophoren) durch Theilung sich zu bilden.

X. Ueber extracellulare Oxydationsvorgänge.

Während wir uns sachgemäss an die Vorgänge in der lebenden Zelle hielten, war wiederholt der Hinweis nothwendig, dass ausgepresste Säfte Reactionen auf activirten Sauerstoff geben können. Diese Thatsache ist aber auch von physiologischem Interesse. Denn einmal taucht damit die Frage auf, ob Pflanzen etwa Oxydationswirkungen ausserhalb der lebendigen Zelle durch Secrete erzielen und jedenfalls müssen Gründe vorhanden sein, welche solche Sauerstoffactivirung erst mit dem Tode der Zelle herbeiführen. Ein näheres Studium der bezüglichen Eigenschaften ausgepresster Säfte lag indess nicht in meiner Absicht und für unsere physiologischen Zwecke genügt zunächst der Hinweis auf einige wesentliche Erfahrungen über die Activirungsvorgänge in solchen Säften. Nach dieser Erörterung soll dann noch kurz auf die Frage über Oxydationswirkung ausserhalb der lebenden Zellen eingegangen werden.

Den Nachweis activirender Wirkungen in Pflanzensäften verdanken wir Schönbein[1]), welcher namentlich die Bläuung von Guajactinctur, oder von Jodkali mit Stärkekleister in Lösung oder als Reagenspapier, jedoch auch Cyanin[2]) und gelegentlich das dem Guajac-

1) Journal f. prakt. Chemie 1868, Bd. 105, p. 198; Zeitschrift f. Biologie 1868, Bd. IV, p. 367.

2) Vgl. diese Abhandlung p. 421.

auszug sich ähnlich verhaltende Chromogen von Boletus luridus[1]) als Reactionen, resp. als Reagentien verwandte. In jüngerer Zeit hat WURSTER[2]) mit Tetramethylparaphenylendiamin und Dimethylparaphenylendiamin, unter Verwendung dieser als Reagenspapiere, ähnliche Versuche angestellt, ohne indess etwas wesentlich Neues hinzuzufügen. Insbesondere sei nachdrücklichst hervorgehoben, dass auch WURSTER immer nur Reactionen durch ausgetretene Säfte erhielt. Denn die aus verletzten Zellen stammenden Stoffe waren es auch, welche die Papiere färbten oder entfärbten, wenn solche an die Schnittfläche von Pflanzentheilen gepresst wurden. Bei solchem Verfahren ist ja naturgemäss keine Einführung in den lebendigen Protoplasmakörper möglich, ja bei Existenz einer Zellhaut, nicht einmal eine Berührung mit der Aussenfläche desselben zu erreichen, und bei intacten Zellen könnten höchstens Secrete dieser ausserhalb der lebendigen Zelle zu Reactionen führen. Demgemäss sind alle Rückschlüsse WURSTER's aus den in besagter Weise gewonnenen Erfahrungen auf die Verhältnisse innerhalb der lebendigen Zelle völlig ungerechtfertigt. Uebrigens hatte bereits SCHÖNBEIN[3]) gefunden, dass die frischen ausgepressten Säfte gegen seine Reagentien keinen activirten Sauerstoff anzeigen und dass dieser erst durch Activirung des zutretenden Sauerstoffs seinen Ursprung nimmt.

Solche Activirungsfähigkeit besitzen nach SCHÖNBEIN z. B. die Säfte von Taraxacum, Lactuca und sehr vieler, jedoch nicht aller Pflanzen. Ob ein negatives Resultat nur durch Beimischungen erreicht wird, wie SCHÖNBEIN (p. 214)[4]) vermuthet, braucht hier nicht weiter behandelt zu werden. Sehr beachtenswerth ist in jedem Falle, dass kleine Mengen von Gerbsäure, Cyanwasserstoff, Eisenvitriol und anderen oxydablen Stoffen die bisherige Reactionsfähigkeit in Säften aufzuheben vermögen (l. c. p. 199, 202, 217). Da

1) Vgl. diese Abhandlung p. 448.

2) Berichte d. chem. Gesellschaft 1886, Bd. 19, p. 3195 und in verschiedenen Abhandlungen der Jahrgänge 1886 bis 1888. — GAD, Verhandlungen d. physiol. Gesellschaft 1887 Nr. 5 und Archiv f. Physiologie von DU BOIS-REYMOND 1887, p. 337. Vgl. auch diese Abhandlung p. 425.

3) Vgl. diese Abhandlung p. 443.

4) Die eingeschaltenen Seitenzahlen beziehen sich auf SCHÖNBEIN's Arbeit in Journal f. prakt. Chemie 1868, Bd. 105.

aber geeignete Zusätze zu Reductionswirkungen Veranlassung geben, kann man sich nicht wundern, dass solche vermöge der stofflichen Zusammensetzung, und speciell des Gehaltes an oxydablen Stoffen von manchen Säften direct ausgeübt werden. Ebenso ist leicht verständlich, dass bei Gleichzeitigkeit von Activirungs- und Reductionswirkung, je nach Umständen, erstere oder letztere als Resultante sich ergibt. So ist es z. B. in der Kartoffel, die das an die Schnittfläche gepresste Papier mit Tetramethylparaphenylendiamin färbt, aber entfärbend wirkt, wenn solches zwischen zwei Schnittflächen, also bei ziemlichem Sauerstoffabschluss gehalten wird[1]).

Näheres ist noch nicht über die Stoffe und Stoffgemische bekannt, welche die Activirung veranlassen. Diese geht nach Schönbein mit der Zeit verloren und wird durch Kochen sogleich vernichtet; auch in Alkohol gehen die activirenden Substanzen nicht über, denn durch diesen wurde das Chromogen des Boletus luridus isolirt. Voraussichtlich werden nicht immer dieselben Umstände Activirung herbeiführen, doch ist wohl möglich, dass eiweissartige Körper eine Rolle mitspielen können, wenn auch die Activirungsfähigkeit nicht gerade eine allgemeine Eigenschaft der Enzyme zu sein scheint, wie Schönbein vermuthete[2]). Vielleicht tritt öfters der activirte Sauerstoff in Autoxydationsprocessen[3]) auf, doch ist damit nicht ausgeschlossen, dass vielleicht in anderen Fällen Körper als Sauerstoffüberträger in irgend einer Weise wirksam sind. In jedem Falle ist der nachgewiesene Mangel von activirtem Sauerstoff in der lebendigen Zelle ein Beweis dafür, dass die Bedingungen für die bezüglichen Activirungen erst durch Mischung der Säfte herbeigeführt werden. Ein solches Verhältniss kann natürlich durch recht verschiedene Umstände bedingt sein, unter welchen z. B. die räumlichen Trennungen späterhin zusammentretender Stoffe in der Zelle und Hemmungen der Activirungen, resp. der entsprechenden Reactionen durch Gegenwart gewisser Stoffe schon angedeutet sind. Auch ist

1) Vgl. Wurster, Ber. d. chem. Gesellschaft 1888, Bd. XXI, p. 1526. Vgl. auch Molisch, Sitzungsb. d. Wiener Akad. 1885, Bd. 95, Abth. 1, p. 230 über das ungleiche Verhalten der Gewebschichten einer Pflanze.

2) Schönbein, Journal f. prakt. Ch. l. c. p. 200; Zeitschrift f. Biologie 1868, Bd. IV, p. 370. Vgl. auch diese Abhandlung p. 448.

3) Vgl. p. 444.

in Betracht zu ziehen, ob etwa Aenderungen in der sauren oder alkalischen Reaction mitwirken, und in gegebenen Fällen könnte auch das Licht[1]) eine activirungsthätige Rolle spielen.

Aus den bisherigen Erfahrungen ist nicht mit einiger Sicherheit zu entnehmen, ob in Pflanzensäften Wasserstoffsuperoxyd, Ozon, nascirender Sauerstoff oder irgend eine Sauerstoffverbindung die nächsten Ursachen der Reactionen sind[2]). Ozon, welches SCHÖNBEIN annahm, ist ebensowenig direct als Ursache erwiesen, als Wasserstoffsuperoxyd, welches WURSTER (l. c.) für wahrscheinlicher hält[3]). Uebrigens könnten auch Sauerstoffüberträger in dem Sinne wie Platinmohr activirend wirken und einzelne Reagentien dürften unter Wechselwirkung mit bestimmten Stoffen und ohne dass in dem S. 440 behandelten Sinne von einer Activirung des Sauerstoffs die Rede sein kann, Oxydationswirkungen anzeigen[4]). Möglich dass letzteres mit den WURSTER'schen Reagentien zutreffen kann, welche übrigens auch schon beim Stehen der Lösungen oder des nassen Papieres an der Luft sich färben.

Ungleichwerthige Reagentien dürften indess in manchen Fällen eine gewisse Unterscheidung der activirten Sauerstoffformen bei näherem Studium erlauben. Speciell in den Pflanzensäften kann die Reaction nicht durch Wasserstoffsuperoxyd veranlasst sein, wenn, wie

---

1) Vgl. u. a. SCHÖNBEIN, Journal f. prakt. Chemie 1868, Bd. 105, p. 223; WURSTER, Ber. d. chem. Gesellschaft 1886, Bd. 19, p. 3199. Sehr auffällig ist z. B. die Einleitung der Oxydationswirkung durch Licht in einem Gemisch aus Oxalsäure und Eisenchlorid, indem erst mit Beleuchtung die Entwickelung von Kohlensäure beginnt.

2) Vgl. auch BAUMANN, Zeitschrift f. physiol. Chemie 1881, Bd. 5, p. 245.

3) Gegen Nitrite als Ursache der Reactionen erklärte sich späterhin schon SCHÖNBEIN (p. 206). Auch Versuche von WURSTER (l. c.) und MOLISCH (Sitzungsb. d. Wiener Akad. 1887, Bd. 95, p. 232) entschieden gegen Nitrite.

4) Relative Empfindlichkeit eines Reagens kann natürlich nur durch Vergleich verschiedener Concentrationen eines Stoffes bemessen werden, nicht aber, wie es in den hier behandelten Reactionen wohl geschah, nach dem Ausbleiben eines Erfolges gegen eine beliebige Lösung, die vielleicht auf das andere Reagens aus qualitativ anderen Ursachen reagirt. Vgl. über Empfindlichkeiten der Reactionen auf activirten Sauerstoff SCHÖNBEIN, Journ. f. prakt. Chemie 1868, Bd. 105, p. 219; BOKORNY, Ber. d. chem. Ges. 1888, Bd. 21, p. 1102.

Schönbein[1]) angiebt, ein kleiner Zusatz dieses Körpers die Bläuungsfähigkeit von Guajac und Jodkalistärke aufhebt.

Weiter kann wohl auch diosmotische Trennung zur näheren Charakterisirung der Qualität des activirten Sauerstoffs angewandt werden, denn es ist klar, dass nur beständige Formen dieses letzteren in Pflanzenzellen ihren Weg finden können. In einem Versuch zeigten die Wurzelhaare von Trianea bogotensis und die Wurzel von Faba keine Oxydationsfärbung an, als sie in den durch Zerstampfen unter Zusatz von Wasser und Auspressen gewonnenen Saft von Taraxacum kamen, welcher Jodkalistärkepapier sehr stark bläute[2]). Ein gleiches negatives Resultat erhielt ich, als besagte Wurzeln nach Bestreuen mit etwas Platinmohr z. Th. im angefeuchteten Zustand in dampfgesättigter Luft, z. Th. in 0,2 proc. Lösung von Natriumbicarbonat gehalten wurden. Indess möchte ich auf diese beiläufigen Versuche keinen besonderen Werth gelegt wissen, und ich führe sie hier nur an, um ein methodisches Princip zu kennzeichnen, das z. B. Wasserstoffsuperoxyd und nascirenden Sauerstoff zu unterscheiden gestattet. Statt der physiologischen Reagentien, die in vielen Fällen nicht anwendbar sind, würde man zweifellos auch künstliche Zellen aus Niederschlagsmembranen verwenden können, welche ein geeignetes Reagens einschliessen und für die auf activirten Sauerstoff zu prüfenden Stoffe undurchlässig sein müssten. Aus Calciumphosphat, Zinksilicat u. s. w. dürften wohl geeignete Zellen zu erhalten sein, und Indigolösung mit Eisenzusatz oder Cyanin könnten z. B. als einzufüllende Reagentien dienen.

Jedenfalls vermögen also Pflanzensäfte, gleichviel in welcher Weise, gewisse Eingriffe des passiven Sauerstoffs zu veranlassen und es ist naturgemäss zu entscheiden, ob nicht etwa in gegebenen Fällen durch Secrete lebendiger Zellen extracellulare Oxydationen erzielt werden. Mit der experimentellen Verneinung sind natürlich ebenso

1) Journal f. prakt. Chemie 1868, Bd. 105, p. 201; Zeitschrift f. Biologie 1868, Bd. IV, p. 368.

2) Ebenso bringen die an den Schnittflächen zusammentretenden Säfte verletzter Zellen keine Oxydationswirkungen auf die lebend gebliebenen Nachbarzellen hervor.

auf andere Weise entstandene extracellulare Oxydationen ausgeschlossen, die z. B. durch irgend welche Wechselwirkungen an der Aussenfläche des Protoplasmakörpers oder durch irgend welche Bewegungszustände zu Stande kommen könnten, welche die thätige Zelle in ihrer Umgebung veranlasst. Ein durch solche Ursachen veranlasster Sauerstoffeingriff wäre ebenso gut denkbar, wie eine extracellulare Sauerstoffentziehung, welche thatsächlich, wie die Reduction von nicht eindringenden Farbstoffen (Indigo, Lacmus) lehrt, durch gährthätige niedere Organismen erzielt wird[1]), ohne Gährthätigkeit aber nicht zu Stande kommt. Lassen wir, wie es auch bisher geschah (p. 434), die Gährorganismen ausser Acht, so sprechen die Erfahrungen mit Penicillium glaucum dagegen, dass extracellulare Oxydationsvorgänge von Bedeutung für diesen Organismus sind, und da man bei der Lebens- und Wirkungsweise der energisch athmenden Schimmelpilze noch am ehesten an eine extracellulare Oxydation denken wird, dürfte eine solche allgemeiner der Regel nach fehlen oder doch nicht bedeutungsvoll sein.

Zu den angedeuteten Versuchen wurden Reinculturen von Penicillium glaucum auf Lösungen gehalten, die schon eine schwache Oxydationswirkung durch darin befindliche empfindliche Reagentien anzeigen mussten. Als solche dienten mit etwas Eisen versetzte Indigo- oder Methylenblaulösung, ferner, ebenfalls mit etwas Eisenzusatz, Cyanin und Jodkalistärke, endlich noch als physiologisches Reagens die Wurzel von Faba.

Ich halte mich hier zunächst an die Versuche mit Indigolösung, welchen sich die anderen Versuche hinsichtlich der Methode anschliessen. In diesen Versuchen erwuchs der Pilz entweder auf den farbstoffhaltigen Lösungen oder das gelöste Reagens kam erst hinzu, nachdem die Nährlösung durch Auswaschen von dem entstandenen Penicilliumrasen entfernt worden war.

Zur Cultur diente 2- bis 3 proc. angesäuerte Lösung von Traubenzucker, der wenig, insgesammt etwa 0,05%, von anorganischen Salzen zugesetzt war. Sollte das Reagens von Anfang an zugegen sein, so wurde 0,02% Eisenlactat zugegeben und durch 0,005 bis 0,002% Indigcarmin schwach blau gefärbt. Eine thunlichst starke

1) Vgl. PFEFFER, Physiologie Bd. I, p. 367.

Ansäuerung durch Salzsäure war geboten, um dauernd genügend Eisen in Lösung zu halten. Denn nur bei Gegenwart von ein wenig Eisen wird Indigo schon durch Wasserstoffsuperoxyd sofort oxydirt und es war deshalb zur Controle nöthig, solche Oxydationsfähigkeit in der während der Cultur nicht entfärbten Lösung nachzuweisen. Von solcher Flüssigkeit kamen 10 bis 12 ccm in grössere Kochflaschen, deren Boden dadurch mit einer 0,4 bis 0,6 cm hohen Flüssigkeitsschicht bedeckt wurde. Nach dem Sterilisiren wurde dann mit üblichen Vorsichtsmaassregeln die Reinaussaat einer grösseren Zahl Sporen von Penicillium glaucum vorgenommen und die Cultur unter Watteverschluss im Dunkeln eingeleitet. Bei 19—24° C. war in 4 bis 5 Tagen eine dünne Decke des Pilzes entstanden, dessen reich verzweigte Mycelfäden in die Flüssigkeit tauchten.

In solcher Cultur zeigte sich in 4 Versuchen die Nährlösung, im Vergleich zu der daneben, aber sterilisirt erhaltenen Controlflüssigkeit, entweder gar nicht oder nur wenig abgeblasst. Dagegen war nach weiteren 2 bis 4 Tagen die blaue Färbung der Culturflüssigkeit gewöhnlich sehr gemindert und in anderen Versuchen hatte die Flüssigkeit eine gelbliche Färbung angenommen.

Ein entsprechendes Resultat ergaben auch 3 Versuche, in welchen unter dem ohne Farbstoff cultivirten Penicillium nach 3 bis 4 Tagen die Nahrlösung durch Wasser ersetzt wurde. Solches gelingt durch geeignetes langsames Abgiessen und 2 bis 3 malige Wiederholung der Procedur nach zuvorigem Hinzufügen von Wasser leicht, sobald der Pilz eine wenn auch nur locker zusammenhängende Decke gebildet hat. Darauf kam die nährstofffreie eisenhaltige Indigolösung hinzu, für welche, bei Mangel von Phosphaten, jetzt eine schwache Ansäuerung genügte. Während 24 bis 48 Stunden hielt sich, bei 19—24° C., die Farbe der Lösung unverändert, dann aber begann die Lösung allmählich abzublassen und war nach 4 bis 5 Tagen in der schon beschriebenen Weise entfärbt.

Es sei hier noch bemerkt, dass die benutzte Indigolösung sich im Dunkeln 12 Tage lang unverändert erhielt, am Licht aber in 1 bis 3 Tagen entfärbt wurde. Vermuthlich entsteht dabei durch Oxydation, welche concentrirteres Eisenchlorid schnell herbeiführt, Isatin[1]). Eine

1) Beilstein, Organische Chemie 1888, II. Aufl., Bd. 2, p. 1046.

Reduction zu Indigweiss, welche übrigens nur gährthätige Pilze auszuführen vermögen, war in diesen Versuchen ausgeschlossen. Auch sei noch bemerkt, dass Bacterienmangel in allen diesen und folgenden Versuchen festgestellt wurde. Übrigens war die Entwickelung von Bacterien der starken Ansäuerung halber nicht zu fürchten.

Ebenso wurden 3 Versuche angestellt, in welchen an Stelle des Indigos 0,0002 % Methylenblau trat. Trotz dieser Verdünnung des Farbstoffs wurde die Entwickelung merklich gehemmt, denn in 6 bis 7 Tagen war erst eine Pilzdecke entstanden, wie sie bei dem unschädlichen Indigozusatz in 4 bis 5 Tagen sich einstellt[1]). Auch nach 7 bis 8 Tagen, von der Aussaat ab gerechnet, war eine merkliche Entfärbung des Methylenblau in der Nährflüssigkeit nicht zu constatiren. Dabei wurde diese durch etwas Wasserstoffsuperoxyd sofort durch Oxydation entfärbt.

Zu 2 Versuchen mit Cyanin dienten in je 4 Tagen auf Nährlösung erwachsene Culturen von Penicillium, die in der beschriebenen Weise auf sehr verdünnte, nur etwas bläulich erscheinende Cyaninlösung, nach Zusatz von etwas Eisenlactat, gebracht wurden. Bei Aufenthalt im Dunkeln war die Flüssigkeit nach 5 Stunden noch deutlich, nach 18 Stunden immerhin noch ein klein wenig gefärbt. Doch hatte Cyanin theilweise die Zellwände und den Inhalt einiger todten Zellen gefärbt und da auch das lebende Protoplasma etwas von diesem Farbstoff speichert, so dürfte die Abnahme der Färbung durch diese Umstände bedingt gewesen sein. Die Anwendung höherer Concentration ist aber bei der Giftigkeit des Farbstoffs unzulässig.

In gleicher Weise wurde in einem anderen Versuche, unter Verwendung einer 4 Tage alten Cultur von Penicillium, die Nährflüssigkeit durch eine sterilisirte Lösung ersetzt, welche 0,016 % Jodkali, 0,01 % Eisenlactat und etwas Stärkekleister enthielt und mit Citronensäure sauer gemacht war. Nach 6 und 24 Stunden war keine Spur einer Bläuung zu bemerken, welche, bei Schluss des Versuchs, auf Zusatz von ganz wenig Wasserstoffsuperoxyd sofort eintrat. Eine in solcher Weise hervorgerufene eben nur merkliche Bläuung verschwindet freilich nach einigen Stunden, woraus indess nur folgt, dass sehr geringe Activirung von unserem Reagens nicht

---

1) Vgl. Pfeffer, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. II, p. 222, 268.

angezeigt wird. Uebrigens schädigt besagte Lösung in keiner Weise unsern Pilz, der sich selbst auf 0,2 proc. Lösungen von Jodkali längere Zeit lebend zu erhalten vermag.

Endlich brachte ich ein Räschen von Penicillium glaucum auf eine junge angefeuchtete Keimwurzel von Faba, die nun im dampfgesättigten Raum gehalten wurde. Nach 24 Stunden hatten Pilzfäden ausgewachsene und noch wachsende Partien der Wurzel zum Theil recht schön umsponnen, in keiner der lebenden Zellen aber war eine Andeutung von Oxydationsfärbung zu entdecken.

Zur Beurtheilung der Versuche sei daran erinnert, dass Indigolösung nur bis zum Protoplasmakörper vordringt und also nur durch eine extracellulare Oxydationsthätigkeit entfärbt werden kann. Gleiches gilt für Jodkalistärke, da, so weit sich beurtheilen lässt, auch Jodkalium nicht in die lebende Zelle eindringt. Dagegen finden Cyanin und Methylenblau ihren Weg in das Innere der lebenden Zelle, doch wird das Plasma von Penicillium durch Cyanin jedenfalls nur sehr gering gefärbt und nur vereinzelte Zellen dieses Pilzes speichern Methylenblau im Zellsaft[1]. Diese Reagentien sind also sowohl extracellularen als intracellularen Oxydationswirkungen ausgesetzt und wenn nur letztere stattfände, würde, des mit der Reaction herbeigeführten Nachstroms halber, ebenso eine gänzliche Entfärbung erzielt werden. Allerdings dürfte Methylenblau wohl nur auf extracellulare Oxydationsthätigkeit reagiren, da es ohne Gegenwart von Eisensalz schwer oxydabel ist (vgl. p. 422) und letzteres vermuthlich nicht in die Zelle wandert. Während aber durch geeignete gelöste Reagentien jedwelche zureichende extracellulare Oxydationswirkung angezeigt würde, kann Faba naturgemäss immer nur bei Vordringen des wirkenden Stoffes bis zum Zellsaft reagiren und weil dieserhalb nur Wasserstoffsuperoxyd oder sich in Beständigkeit und Wirkung ähnlich verhaltende Körper eine Reaction zu erzielen vermögen, ist dieses physiologische Reagens in unserer Frage von keiner entscheidenden Bedeutung.

Die Gesammtheit obiger Erscheinungen spricht ebensowohl gegen eine extracellulare als gegen eine intracellulare allgemeine Oxydationswirkung in Penicillium. Denn eine solche hätte schnell durch die

---

1) Vgl. Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. II, p. 222.

angewandten empfindlichen Reagentien angezeigt werden müssen, auch durch die Farbstoffe, deren absolute Menge so gering war, dass selbst bei mässiger Sauerstoffübertragung sehr bald eine totale Entfärbung erzielt worden wäre. Durch Jodkalium und Methylenblau wurde aber gar keine Oxydationswirkung angezeigt und ebenso augenscheinlich nicht durch Cyanin, denn die allmähliche Farbenabnahme findet in der erwähnten Speicherung dieses Farbstoffs und in seiner unvermeidlichen allmählichen Zersetzung in Lösungen wohl die genügende Erklärung. Ebenso erhielt sich Indigo bei jugendlichen, aber schon recht ansehnlichen Culturen stets intact, und so muss die spätere Entfärbung entweder einer mit dem Alter veränderten Thätigkeit entspringen oder durch Austritt von Säften aus absterbenden Zellen, die sich mit dem Alter einstellen, veranlasst werden. Thatsächlich kann sich solche Indigolösung durch Zusatz von ausgepressten Pflanzensäften entfärben, doch habe ich nicht weiter ermittelt, ob auf diese Ursache die Entfärbung in unseren Versuchen fällt, oder ob etwa noch Ausscheidung von Stoffen aus lebenden Zellen eine Rolle mitspielt. Wie dem auch sei, jedenfalls reichen die Resultate mit schon ansehnlichen jugendlichen Culturen aus, um darzuthun, dass extracellulare Oxydation in der Athmungsthätigkeit keine wesentliche Rolle spielen kann. Es wird dieses besonders klar werden, wenn wir einen Blick auf die Intensität dieser physiologischen Verbrennung werfen.

Aus Versuchen Diakonow's[1]) entnehme ich z. B., dass mit Zucker und Pepton ernährtes Penicillium glaucum schon bei 15° C. in 1 Stunde rund 25 mg (24,8 mg), in 24 Stunden also 600 mg Kohlensäure producirte, eine Menge, die eine totale Verbrennung von 409 mg Glycose erfordert. Diese Cultur wog getrocknet 0,878 g und es würde sich bei 90 % Wassergehalt für dieses Penicillium ein Frischgewicht von 8,78 g berechnen[2]). Die in 24 Stunden ausgegebene Kohlensäure beträgt also dann 68,3 % des Trockengewichts und 6,83 % des Frischgewichts.

Ein ausgewachsener Mensch giebt im Durchschnitt etwas weniger

1) Bericht. d. chem. Gesellschaft 1886, Bd. 4, p. 3.

2) Champignon enthält 93, Morchel 91 % Wasser. Ebermayer, Physiol. Chemie d. Pflanzen 1882, Bd. I, p. 27.

als 900 g Kohlensäure in 24 Stunden ab und wenn wir dessen Gewicht zu 75 kg annehmen, berechnet sich diese Kohlensäureproduction auf 1,2% des Lebensgewichts[1]), beträgt also relativ nicht einmal 1/3 der von Penicillium erzeugten Menge. In höheren Pflanzen ist freilich die Athmungsenergie gewöhnlich geringer, erreicht indess in kräftig athmenden Organen nicht selten sogar relativ höhere Werthe als im Menschen. Zur Veranschaulichung greife ich hier nur einen Versuch Johannsen's[2]) heraus, in welchem 57 g frische Erbsenkeimlinge bei 21° C. in 1/2 Stunde 11 mg, in 24 Stunden also 528 mg, d. h. 0,93% des Frischgewichts an Kohlensäure lieferten. Durch den grossen Vorrath von Reservestoffen in diesen jungen Keimlingen wird aber dieser Procentwerth für Kohlensäure natürlich herabgedrückt und dennoch würde dieser bei der ansehnlichen Steigerung der Athmung mit der Temperatur den des Menschen erreichen und selbst überschreiten können. Wie energisch aber die Athmungsoxydation in dem thätigen Protoplasmakörper selbst ist, ergiebt sich leicht aus der Erwägung, dass dieser zumeist nur einen Bruchtheil der ganzen Zelle ausmacht (vgl. p. 432).

Fände diese so ausgiebige Kohlensäureproduction durch Penicillium extracellular statt, so müssten ausserhalb der Zelle ungemein energische Oxydationswirkungen thätig sein, welche unsere so empfindlichen Reagentien schnell anzeigen würden. Denn unsere 4 bis 5 Tage alten Penicilliumculturen hatten ein Frischgewicht von 1—2 g und schon bei 1 g Frischgewicht wäre bei der oben mitgetheilten Athmungsenergie in 24 Stunden die Entstehung von 68 mg Kohlensäure, entsprechend der Verbrennung von 43 mg Glycose, zu erwarten. In den 10 g Reagensflüssigkeit unserer Versuche befanden sich aber höchstens 0,5 mg Indigocarmin, ja sogar nur 0,02 mg Methylenblau und ähnlich wird wohl auch die Cyaninmenge gewesen sein. Diese geringen Mengen würden also selbst bei viel geringerer Oxydationswirkung schnell verschwinden müssen. Abgesehen davon, dass Indigo, Cyanin und Jodkalistärke gleiches Resultat nach Ent-

---

1) Ich verweise auf die inzwischen erschienene Abhandlung von Mc Kendrick in Biol. Centralblatt 1889, Bd. 8, p. 667. Aus dieser ist auch zu ersehen, wie die Athmungsthätigkeit in Vögeln viel ansehnlicher ist als im Menschen. Für diesen sind die im Text angeführten Werthe etwas zu hoch gegriffen.

2) Unters. a. d. botan. Institut in Tübingen Bd. I, p. 695.

fernung der Nährlösung ergaben, würden doch unsere Reagentien, und nicht die relativ so schwer oxydable Glycose, den Sauerstoff zunächst an sich reissen, wenn irgendwie ausserhalb der Zelle activirter Sauerstoff oder überhaupt eine gegen alle Körper gerichtete Oxydationswirkung stattfände.

Nach den Erfahrungen mit unseren Reagentien kann also das Fehlen einer irgend erheblichen allgemeinen extracellularen Oxydationswirkung für jugendliche Culturen von Penicillium als erwiesen angesehen werden und so ist auch nicht anzunehmen, dass etwa ausser Glycose andere Stoffe, wie Oxalsäure, Ameisensäure, Essigsäure u. s. w. extracellular verbrannt werden, da diese doch sämmtlich ungleich schwieriger oxydabel sind. Demgemäss vollzieht sich die physiologische Verbrennung auch bei Penicillium, wie bei anderen Pflanzen, innerhalb der lebendigen Zelle und in dieser fehlt auch bei Penicillium activirter Sauerstoff. Denn bei dessen Production im Protoplasma oder im Zellsaft wäre Cyanin in den mitgetheilten Versuchen entfärbt worden, während diese Versuche gegen eine Oxydation dieses Farbstoffs sprechen. Noch entscheidender wäre die Beobachtung des Cyanins im Protoplasma, das leider diesen Farbstoff zu schwach speichert, um ein gutes Versuchsobject, wie die Wurzelhaare von Trianea, abzugeben. Immerhin schien es mir, dass die ganz schwache Färbung durch Cyanin, welche das Protoplasma vereinzelter Mycelzellen etwas deutlicher annahm, sich während 12 Stunden erhielt.

Während also die eigentlichen physiologischen Oxydationsvorgänge jedenfalls in das Innere der Zelle zu verlegen sind, soll damit die Möglichkeit gewisser extracellularer Oxydationen nicht ausgeschlossen sein. Durch die Säfte absterbender Zellen, und in concreten Fällen wohl auch durch Secrete lebender Zellen, kommen gewisse extracellulare Activirungen sicher vor und es ist möglich, dass diese bei bestimmten Organismen höhere Bedeutung erlangen. Unsere negativen Resultate mit Penicillium schliessen ebenfalls nicht aus, dass selbst dieser Pilz unter bestimmten Bedingungen extracellulare Sauerstoffactivirung erzielt, und eine solche, die freilich wahrscheinlichst durch Absterben von Zellen erreicht wurde, zeigte Indigo für älter werdende Culturen an. Eine positive Reaction mit empfindlichen Reagentien lässt aber immer zunächst im Zweifel, ob eine solche schwache Activirung Bedeutung für den Organismus hat

und ob damit tiefer eingreifende Oxydationen erreichbar sind. Freilich darf man auch hier nicht vergessen, dass durch Continuität der jeweils nur schwachen Wirkung dennoch mit der Zeit ansehnliche Erfolge erreicht werden könnten, und für die Gährorganismen haben, wie schon hervorgehoben wurde, erst specielle Untersuchungen zu entscheiden, ob und in wie weit extracellulare Oxydationen stattfinden.

Die obigen Erwägungen gelten auch für die Erfahrungen von Molisch[1]), nach denen aus Wurzeln Stoffe austreten, welche Guajactinctur ähnlich bläuen, wie es vielfach Pflanzensäfte thun. Der sichere Nachweis, dass es sich hierbei, wie es wohl möglich ist, um Secrete lebender Zellen handelt, fehlt, und es ist immerhin zu bedenken, dass an Wurzeln verschiedene Zellen der Peripherie frühzeitig absterben. Für die Oxydationsbedeutung aber dieser austretenden Stoffe mangeln massgebende Argumente, denn bezüglich der angeführten Aetzfiguren auf einer Elfenbeinplatte bleibt es fraglich, was Säuren oder was andere Ursachen bewirkten.

Zu den extracellularen Sauerstoffactivirungen gehört auch die Entstehung des Ozons, oder vielleicht einer ähnlich reagirenden Sauerstoffverbindung, die, und besonders bei Beleuchtung, um Pflanzen augenscheinlich stattfindet, obgleich wirklich kritische Untersuchungen über diese Frage und besonders über die Causalität dieser Production fehlen[2]). Indess kann man sich über solche Entstehung nicht gerade wundern, da bekanntlich bei der Oxydation ätherischer Oele und anderer Stoffe, nach Gorup-Besanez auch bei hoch gesteigerter Wasserverdampfung, etwas Ozon aus passivem Sauerstoff sich bildet. Und möglicherweise hat auch diese Ozonbildung irgend eine Bedeutung für die Pflanze oder für den Naturhaushalt.

Dagegen ist der bei der Kohlensäurezersetzung im Licht entstehende Sauerstoff nicht activirt. Denn käme er activirt in den Zellsaft, so müsste in den chlorophyllführenden Zellen des Blattes und Stengels von Faba, des Blattes von Hydrocharis, der Wurzelepi-

1) Sitzungsb. d. Wiener Akad. 1887, Bd. 96, Abth. 1, p. 86.

2) Ozonbildung durch Pflanzen in der umgebenden Luft geben an: Scoutetten, Compt. rendus 1856, Bd. 42, p. 941; Kosmann, Annal. d. scienc. naturell. 1862, sér. IV, Bd. 18, p. 111; Poey, Compt. rend. 1863, Bd. 57, p. 344; Jamieson, Chem. Centralblatt 1879, p. 519; Anders u. Miller, Botan. Jahresb. 1886, p. 86. Negative Resultate berichtet Cloez, Compt. rend. 1856, Bd. 43, p. 762.

dermis von Trianea, der Kelchzipfel von Phlox u. a. Färbung, resp. Entfärbung entstehen, während thatsächlich der Zellsaft zeitlebens keine Spur einer solchen Oxydationswirkung anzeigt. Dem entsprechend bleiben auch die reactionsfähigen chlorophyllfreien Zellen, welche chlorophyllführenden Zellen benachbart sind, frei von Oxydationswirkungen, wie sie Wasserstoffsuperoxyd und überhaupt activirter Sauerstoff erzielt[1]). Ein gleiches Resultat ergab sich auch, als eine behaarte kleine Wurzel von Trianea zwischen die in Wasser sehr dicht gehäuften Spirogyrafäden kam, welche während 6 Stunden sehr stark Sauerstoff entwickelten.

Weiter wurden auch noch Versuche gemacht, in welchen gelöste Reagentien bis an die Aussenfläche des Protoplasmakörpers vordrangen. Zu dem Zwecke kam eine dickfädige Spirogyra in eine mit Citronensäure ganz schwach angesäuerte Lösung, welche entweder neben etwas Stärkekleister 0,02 % Jodkali und 0,01 % Eisenlactat oder in anderen Experimenten 0,005 % Indigocarmin mit 0,01 % Eisenlactat enthielt. Die Zuführung der Reagentien geschah erst, nachdem durch Abwaschen mit Wasser der Inhalt der etwa beim Uebertragen getödteten Zellen entfernt war. Dann wurde dafür gesorgt, dass in dem etwas weiten Reagensrohr die Flüssigkeit nur 2—3 cm hoch stand und dicht mit Spirogyrafäden durchsäet war. Auch wurde zeitweise etwas Kohlensäure in die Flüssigkeit geleitet, um für reichliche Zufuhr dieses Gases zu sorgen.

Während sechsstündiger Beleuchtung mit etwas gedämpftem Sonnenlicht ging eine sehr energische Sauerstoffentwickelung von statten, aber es blieb jede Spur einer Bläuung in Jodkalistärke aus. Ebenso war die Indigolösung in dieser Zeit nur ganz wenig und, was entscheidend, nicht mehr abgeblasst[2]), als die in gleicher Weise behandelte pflanzenfreie Controllösung. Enthielte aber der so massenhaft austretende Sauerstoff auch nur etwas activirten Sauerstoff, so hätte in beiden Versuchen sehr schnell eine starke positive Reaction eintreten müssen. Bemerkt sei noch, dass Spirogyra auch nach 24stündigem Verweilen in obigen Reagentien vollständig lebend und lebensthätig war.

---

1) Ueber die Thatsachen vgl. diese Abhandlung p. 396 ff.

2) Vgl. über die Wirkung der Beleuchtung diese Abhandlung p. 472.

Aus diesen Versuchen folgt nur bestimmt, dass der producirte Sauerstoff beim Uebergang vom Protoplasma in den Zellsaft und nach aussen nicht activirt ist. Ob ihm solche Eigenschaft bei seiner Entstehung im Chlorophyllkorn zukommt, ist nicht gerade wahrscheinlich, doch liegen in dieser Hinsicht keine empirischen Beweise vor. Solche würden auch wohl nur durch Reagentien erzielbar sein, welche sich natürlich im Chlorophyllkorn finden oder künstlich in dieses eingeführt wurden. Bei der Oxydationswirkung der Beleuchtung auf Cyanin ist dieser Farbstoff in diesem Falle nicht geeignet. Natürlich lassen unsere Versuche auch unentschieden, ob molekularer Sauerstoff oder irgend eine Sauerstoffverbindung das Protoplasma verlässt, nur kann dann beim Zerfall letzterer keine Activirung eintreten[1]).

XI. Die Sauerstoffathmung.

Mit Absicht wurden bisher die Versuchsresultate und die sich zunächst daraus ergebenden Folgerungen behandelt, um auf Grund dieser nunmehr dem hochwichtigen physiologischen Verbrennungsprocess, der Athmung, näher zu treten. Erst vor wenigen Jahren[2]) hatte ich Veranlassung, die Causalität dieses Vorganges zu behandeln, und wenn auch heute eine lückenlose Einsicht in diesen Oxydationsvorgang noch nicht erreicht wurde, so ist doch wenigstens eine wesentliche Präcisirung der zur Athmung führenden allgemeinen Bedingungen möglich. Damit wird aber in den allgemeinsten Erwägungen nichts geändert, welche ich in der früheren Publication darzulegen hatte, doch ist es wohl geboten, auf diese hier so weit

1) In jüngerer Zeit hat Pringsheim (Sitzungsb. d. Berl. Akad. 1887, Bd. 38, p. 772) die Annahme gemacht, der in der Kohlensäurezersetzung entstehende Sauerstoff wandere in Form einer Verbindung durch den Protoplasmakörper, die erst ausserhalb der Zelle zerfalle. Aus den bis dahin mitgetheilten Thatsachen vermag ich einen genügenden Beweis für diesen Schluss nicht zu entnehmen. Für die Oxydationsvorgänge kommt übrigens diese Frage nicht wesentlich in Betracht, da diese von der Chlorophyllfunction unabhängig sind und die Existenz von verathembarem Sauerstoff in der Zelle direct erwiesen wurde.

2) Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen (1885), Bd. I, p. 673.

zurückzukommen, als es zum Verständniss der Schlussfolgerungen und für eine zusammenhängende Darstellung nothwendig ist. Naturgemäss findet nur dasjenige Berücksichtigung, was für die Modalitäten und Ursachen des Oxydationsvorganges von Bedeutung ist, und es liegt hier weder in meiner Absicht, Wesen und Bedeutung der Athmung allseitig zu beleuchten, noch auch eingehend verschiedene Theorien zu schildern, deren Andeutung dem Principe nach für uns genügend ist. Unterlassen will ich nicht, nochmals zu betonen, dass die Sachlage nur zulässt, die Bedingungen enger zu umgrenzen, welche in der Athmung den Eingriff des passiven Sauerstoffs herbeiführen, eine vollständige Detaillirung des Processes, oder richtiger wohl der Kette von Processen in der physiologischen Verbrennung dagegen noch nicht möglich ist. Unter solchen Umständen würde man aber den inductiven Boden verlassen und dem ferneren Fortschritt in unserer Frage hinderlich sein, wenn man durch eine weitergehende Theorie die Athmungsoxydation an einen ganz bestimmten der möglichen näheren Processe ketten wollte.

»Die Athmung ist eine Function des lebendigen Organismus, welche zum Unterhalt der normalen Lebensthätigkeit unerlässlich ist, und mit Rücksicht auf diese Wechselbeziehungen ein analoges Verhältniss bietet, wie die brennende Kerze, in welcher durch die Verbrennung und ihre Leistungen zugleich die Bedingungen für die fernere Fortdauer der Verbrennung geschaffen werden. Unzweifelhaft spielt sich im Innern des Protoplasmaorganismus selbst der nothwendige, Betriebskraft für das Leben liefernde Athmungsprocess ab, welcher, weil von der Lebensthätigkeit abhängig, sogleich mit dem Tode stille steht.«

»Der oxydirende Eingriff des molekularen Sauerstoffs wird also durch die im lebendigen Organismus gebotenen Bedingungen verursacht und regulirt; in den im lebendigen Organismus gebotenen Dispositionen, nicht in dem Sauerstoff liegt die primäre Ursache der Athmung. Dieses ergiebt sich als logische Folgerung, welcher Art immerhin die den Eingriff des Sauerstoffs veranlassenden Ursachen sein mögen, und, ohne bestimmte Voraussetzungen hinsichlich dieser, darf man wohl von den in dem lebenden Organismus entwickelten Sauerstoffaffinitäten als den die Athmung veranlassenden und regulirenden Ursachen reden. Diese Sauerstoffaffinitäten müssen in jedem

Augenblick in nur begrenzter Menge geboten sein, aber fortdauernd entwickelt werden, denn nur so erklärt sich, dass die Ausgiebigkeit der Athmung in weiten Grenzen von der Partiärpressung unabhängig ist, mit der doch die in die Zelle eindringende Menge Sauerstoff steigt und fällt.«

Ich habe hier früher[1]) ausgesprochene Worte wiederholt, mit denen auch heute einige allgemeinste Beziehungen der Athmung ausgesprochen sind. Da doch schon in diesen Worten die Aufforderung liegt, die den Sauerstoffeingriff bedingenden Ursachen näher aufzuklären, ist es mir um so unverständlicher, wie REINKE[2]) diese Sätze als Zeichen einer verderblichen vitalistischen Auffassung citirt, als denselben die Darlegung der möglichen Oxydationsursachen in der Athmung in derselben Abhandlung folgt. Denn gesetzt, es gelänge, die Ursache des Sauerstoffeingriffs auf einen autoxydablen Körper zurückzuführen — wie es REINKE ohne irgend massgebende Gründe annimmt, wie es übrigens auch als Möglichkeit von mir früher discutirt wurde —, so kann doch nur mangelnde Ueberlegung den Athmungsprocess damit den Thätigkeiten des lebendigen Organismus entrückt sehen. Denn die Aufgabe des Organismus wäre es dann immer noch, das autoxydable Material zu schaffen, ohne welches die physiologische Verbrennung ebenso wenig fortdauern kann, wie das Feuer im Ofen, dem nicht neues Brennmaterial zugeführt wird. Und dem Principe nach würde diese, wie jede in den obigen Rahmen passende Aufhellung, immer nur eine weitere Zergliederung complexer Grössen sein, die wir so oft genöthigt sind, zunächst in unsere Betrachtungen einzuführen[3]).

Eine Anhäufung von Stoffen, welche dem neutralen Sauerstoff sofort anheimfallen, kann aber in der Zelle nicht bestehen, in der nachweislich freier passiver Sauerstoff und sogar Wasserstoffsuperoxyd existenzfähig ist. Nicht von solchem für sich allein autoxydablen Material kann es demnach herrühren, wenn nach dem Tode noch Oxydationsvorgänge fortdauern und, wie nachgewiesen, können sich postmortale Oxydationsprocesse einstellen, die während des Lebens,

1) L. c., p. 673.
2) Bericht. d. chem. Gesellschaft 1887, p. 217.
3) Vgl. PFEFFER, Pflanzenphysiologie Bd. I, p. 2.

also vor der Mischung der räumlichen getrennten Stoffe, nicht zu Stande kamen. Es wäre also an sich nichts Auffälliges, wenn in solchen postmortalen Sauerstoffeingriffen Kohlensäure entstände und jedenfalls würde die Thatsache solcher Production nicht ohne weiteres zu dem Schlusse berechtigen, dass diese und die in der Athmung während des Lebens gebildete Kohlensäure gleichen Processen entspringen. Und nicht nur mit dem Schlusse auf solche materielle Uebereinstimmung begeht REINKE einen Fehler, sondern auch in der Annahme, dass reichliche Kohlensäureproduction nach dem Tode eine allgemeine Eigenschaft der Pflanzen sei. Die Beweise, dass dem nicht so ist, sollen im nächsten Capitel gebracht werden. Mit dem, wenigstens für concrete Fälle, negativen Befunde aber haben wir auf eine postmortale Kohlensäureproduction überhaupt keine Rücksicht während der Betrachtungen über Athmung in dem lebendigen Organismus zu nehmen.

Wohl möglich ist, dass gleichzeitig einige der Qualität und der Bedeutung für den Organismus nach verschiedene Oxydationsprocesse, sogar in einer einzelnen Zelle, sich abspielen. Es muss deshalb auch fraglich bleiben, ob alle die mit Sauerstoffeingriff, resp. mit Kohlensäureproduction verknüpften Processe der Athmung zuzugesellen sind, wenn man sich dahin einigt, unter dieser die speciell für die allgemeine Betriebsthätigkeit des Organismus unentbehrlichen Oxydationsprocesse zu verstehen[1]). Da indess zur Zeit sogar der Nachweis, geschweige denn die functionelle Trennung solcher möglichen verschiedenen Processe nicht gelungen ist, so muss man bis auf weiteres Kohlensäureproduction und Sauerstoffconsum als Maassstab für die Athmungsthätigkeit nehmen.

In Erwägung des Gesagten könnten also recht wohl auch im Zellsaft lebendiger Organismen, und auch extracellular Oxydationsprocesse von Statten gehen; die wesentliche, wenn nicht die ausschliessliche Athmungsthätigkeit ist indess im Protoplasmakörper selbst zu suchen. Denn in diesem spielen sich ja vitale Functionen ab, welche, wie z. B. die Protoplasmabewegungen, mit der Sauerstoffentziehung sogleich stille stehen, und ferner athmen auch zellsaft-

---

1) Vgl. PFEFFER, Pflanzenphysiologie Bd. I, p. 356; Unters. a. d. botan. Institut in Tübingen I, p. 675 Anmerkung.

freie Zellen, ja in Jugendzuständen, in welchen in manchen Zellen Vacuolenflüssigkeit nicht oder in minimaler Menge vorhanden ist, scheint die Athmungsthätigkeit ihre höchsten Werthe zu erreichen.

Die Unentbehrlichkeit der Athmung für die Lebensthätigkeit folgt aus wohlbekannten Erfahrungen und der Bedeutung der Athmung geschieht damit kein Abbruch, dass einzelne Functionen ohne Eingriff des Sauerstoffs möglich sind und dass bestimmt niedere Organismen des freien Sauerstoffs entbehren können, ein Factum, das freilich für Aufhellung und Bedeutung des Athmungsprocesses im höchsten Grade zu beachten ist. Auch bleibt solche Erfahrung unverrückt, gleichviel ob mit mechanischen Maasse gemessen, die Athmung einen erheblichen oder minimalen Theil der Arbeitskraft im Organismus liefert, ob sie nur auslösend oder direct treibend eingreift, ob sie in vielen oder nur einzelnen, dann aber erfahrungsgemäss für die Gesammtthätigkeit unerlässlichen Vorgängen mitzuwirken hat, oder wie immer die Verhältnisse zwischen Athmung und Thätigkeit im Organismus in Wirklichkeit liegen mögen[1]). Die Aufhellung dieser und ähnlicher Fragen ist aber von ganz besonderer Bedeutung und es ist wohl sicher vorauszusagen, dass schon mit einem partiellen Eindringen ganz hervorragende und vielleicht ungeahnte Einblicke in das Lebensgetriebe gewonnen werden. So viel indess vermochte ich schon früher auszusprechen, dass jedenfalls die Hauptsumme der Arbeitskraft in der Pflanze nicht aus der physiologischen Verbrennung entspringt und dass demgemäss, z. B. mit Rücksicht auf die so hervorragenden, von löslichen Stoffen abhängigen osmotischen Leistungen, nicht schlechthin die Verbrennungswärme und die alleinige Beachtung der Anfangs- und Endproducte, sondern auch die Qualität der Umwandlungen für die Leistungsfähigkeit eines Stoffes in der Pflanze von wesentlichster Bedeutung ist. So ist es auch wohl möglich, dass die mit der Athmung actuell werdende Energie fast ganz in Wärmebewegung zur Erscheinung kommt, wie es thatsächlich nach den verdienstvollen Untersuchungen Rodewald's[2]) der Fall zu sein

1) Vgl. Pfeffer, Pflanzenphysiologie Bd. I, p. 378; Bd. II, p. 1. Auch Landwirthsch. Jahrbücher 1878, Bd. 7, p. 834.

2) Jahrb. f. wiss. Botanik 1888, Bd. 19, p. 221; 1886, Bd. 17, p. 338. — Vgl. auch Wilsing, Bot. Jahresb. 1886, I, p. 77 und Bonnier, Compt. rend. 1886, Bd. 102, p. 448.

scheint. Auch dürften der ganzen Sachlage nach wohl ähnliche Verhältnisse im Thierorganismus obwalten, in welchem mit der Wärmeregulation sich für die Athmung theilweise etwas neue Gesichtspunkte eröffnen.

Mit der Realität der Athmung ist es selbstverständlich, dass immer nur ein je nach Entwickelungsstadien und anderen Verhältnissen veränderlicher Theil der eingeführten organischen Nahrung zum materiellen Aufbau des Organismus dienstbar gemacht werden kann[1]). Schon mit Rücksicht auf die Nothwendigkeit des Verbrennungsmateriales steht die Athmung in einer directen Abhängigkeit von Quantität und Qualität der zugeführten Nahrung. Da von letzterer aber auch Wachsthum und Gesammtthätigkeit abhängig sind, so hat die Nahrungszufuhr natürlich auch einen indirecten Einfluss auf die Athmung, denn diese wird in erster Linie von der Existenz und den Fähigkeiten des lebendigen Organismus bestimmt.

Mag nun die physiologische Verbrennung wie immer zu Stande kommen, in jedem Falle muss durch bestimmte Dispositionen im lebendigen Protoplasma erreicht werden, dass der passive Sauerstoff bei gewöhnlicher Temperatur oxydirend eingreift und, was damit eng verknüpft ist, dass die Ausgiebigkeit der Athmung in jedem Augenblicke durch diese Dispositionen bestimmt ist und demgemäss die Fortdauer letzterer die nothwendige Bedingung für Unterhaltung der Athmung ist. Ohne irgend eine Vorstellung über diese Dispositionen und die näheren Modalitäten des Oxydationsprocesses kann man deshalb, wie ich es auch früher that, von den in dem Organismus entwickelten Sauerstoffaffinitäten als den Ursachen und den Regulatoren des physiologischen Verbrennungsprocesses sprechen.

Die soeben ausgesprochenen Sätze sind mit dem Vorhandensein des passiven Sauerstoffs unzweifelhaft sicher gestellt und für dessen Existenz in der Zelle sind unwiderlegliche Beweise mitgetheilt worden (p. 449). Selbstverständlich ist damit die Anhäufung von Material ausgeschlossen, das sofort den Sauerstoff an sich reisst. Demgemäss kann nur die fortdauernde Entwickelung von Sauerstoffaffinitäten die Ursache der Athmung sein und, unter normalen Verhältnissen, werden diese sogleich ihre volle Sättigung durch den

---

1) Pfeffer, Pflanzenphysiol. Bd. I, p. 267.

überschüssig vorhandenen neutralen Sauerstoff finden. Auch wenn wirklich, was schon früher (p. 451) als möglich angedeutet wurde, der passive Sauerstoff sich in der Zelle in irgend einer lockeren Bindung, etwa analog wie im Blute, befinden sollte, so wird damit an obigen Schlüssen gar nichts geändert, denn es ist direct gezeigt worden, dass der passive Sauerstoff in der Zelle in einem für fremde eingedrungene Organismen verathembaren Zustand vorhanden ist. Auch fällt mit diesen Thatsachen, wie auch schon dargethan wurde (p. 409), jede Berechtigung von Reinke's Annahme, nach der die Oxydation nur in der Peripherie des Protoplasmas stattfinden soll[1]), eine Annahme, die auf der irrigen Voraussetzung basirt, dass Chromogene im Zellsaft, wie nach dem Tode der Zelle, durch passiven Sauerstoff oxydirt werden müssten.

Die Erfahrungen mit Wasserstoffsuperoxyd können nur zur Bestätigung des Gesagten dienen, denn selbst dieser activirte Sauerstoff kann im Protoplasma bestehen und vermag dieses zu durchwandern. Sollten, was nur empirisch zu erweisen, aber nicht gerade nothwendig ist, in dem Protoplasma durch Wasserstoffsuperoxyd gewisse Oxydationen eingeleitet werden, welche der passive Sauerstoff nicht zu erzielen vermag, so berührt dieses natürlich die obigen Schlüsse nicht, da in der Zelle kein activirter Sauerstoff auftritt.

Die obigen allgemeinen Schlussfolgerungen gelten auch ebensowohl, wenn die physiologische Verbrennung durch eine ganze Kette von Processen oder durch einfachere Vorgänge erreicht wird. Jedenfalls aber entspringt die Kohlensäure nicht einem von dem Sauerstoffeingriff unabhängigen Dissociationsprocess, wie es Wortmann wollte[2]), denn dagegen zeugt, wie ich früher hervorhob[3]), die mit der Ent-

---

1) Den bekanntlich häufig nur dünnen Wandbelag des Protoplasmas könnte vielleicht einmal eine einseitige Zweck-Anatomie in unseren Fragen zu Felde zu führen versuchen. Es sei deshalb bemerkt, dass bekanntlich die Zellen auch ganz mit Protoplasma erfüllt sein können und teleologisch betrachtet, erscheint es doch z. B. ansprechender, solche Ausbreitung des Protoplasmas unter gleichzeitiger Zunahme des Zellsaftes als ein Mittel anzusehen, mit dessen Hülfe das Protoplasma die Anpressung an die Zellhaut und seine Continuität um den Zellsaft bewahrte, ohne an Masse absolut zunehmen zu müssen.

2) Vgl. Pfeffer, Pflanzenphysiologie Bd. I, p. 372.

3) Unters. a. d. bot. Inst. in Tübingen Bd. I, p. 659, 674. Auch Diakonow, Bericht. d. bot. Gesellschaft 1886, Bd. 4, p. 2.

ziehung des Sauerstoffs in manchen Pflanzen und insbesondere auch in Schimmelpilzen sehr weitgehende sofortige Verminderung der ausgegebenen Kohlensäure. Immerhin bleibt dabei noch unentschieden, ob Sauerstoffeingriff und Kohlensäureproduction so einfach zusammenfallen, wie beim Verbrennen der Kerze, oder ob beide Vorgänge zwar von einander abhängig, aber in verwickelter Weise verkettet sind.

Ebenso werden diese allgemeinen Grundzüge nicht von der Frage berührt, ob bezüglich der Athmungsthätigkeit eine gewisse functionelle Arbeitstheilung oder wenigstens eine quantitative Differenz in den Theilen des Protoplasmakörpers besteht. Für die Entscheidung dieser Frage fehlt es an sicheren Anhaltspunkten, welche sich auch nicht aus unseren Erfahrungen ergaben, die indess lehrten, dass eine Oxydation von Cyanin in keinem Theile des Protoplasmas stattfindet. Die aus Versuchen mit Cyanin gezogenen Schlüsse sind also auch dann begründet, wenn die physiologische Oxydation nur in bestimmten Theilen verlaufen sollte (p. 433). Wahrscheinlich muss es übrigens dünken, dass, wie in anderen Functionen, so auch in der Athmung, gewisse Differenzen in dem Zellkern, in der Hautschicht, in den Mikrosomen und überhaupt in einzelnen Theilen des Protoplasmas bestehen und unmöglich ist es nicht, dass räumlich benachbarte Theile zur Erzielung dieser physiologischen Oxydation irgendwie zusammenwirken. Jedenfalls ist aber mit dem wahrnehmbaren Aufbau des Protoplasmas (vgl. p. 458) eine schichtenweise Trennung in Athmungsplasma, Ernährungsplasma u. s. w. unverträglich, welche von Brass[1]) angenommen wurde.

Eine weitere Präcisirung der Ursachen der Oxydation gestatten aber immerhin unsere Erfahrungen, die einmal activirten Sauerstoff jeder Art als Ursache der physiologischen Verbrennung oder als mitwirkend in dieser ausschliessen, und ferner den Beweis liefern, dass nicht einmal leicht oxydable Körper bei Durchtränkung des Protoplasmas dem passiven Sauerstoff zur Beute fallen.

Die Versuche, aus welchen sich das Fehlen von schwach oder stark activirtem Sauerstoff ergiebt, sind früher ausführlich interpretirt worden (p. 430). Mit diesem Mangel aber hat jede Theorie ihre

1) Biologische Studien 1883, Heft I, p. 17.

Berechtigung verloren, welche activirten Sauerstoff, gleichviel in welcher Weise, als Ursache der physiologischen Verbrennung in der Zelle fordert. Denn solchem activirten Sauerstoff müssten doch nothwendig die leichter oxydablen Stoffe zunächst anheimfallen und da, wie nachgewiesen, solche Stoffe, welche das im Protoplasma dem activirten Sauerstoff so leicht zugängliche Cyanin schützen könnten, nicht vorhanden sind, so ist die Nichtentfärbung dieses Reagens ein völlig sicheres Argument für das Fehlen von Wasserstoffsuperoxyd oder von stärker wirkendem activirten Sauerstoff.

Da thatsächlich directe Beweise für die Entstehung von activirtem Sauerstoff in der lebendigen Zelle nie erbracht sind, wie schon früher hervorgehoben ist, so genügt es weiterhin noch kurz auf die Hypothesen hinzuweisen, welche in dem activirten Sauerstoff die Ursache der Athmungsoxydation suchten. In allen diesen Hypothesen ist, so weit ich sehen kann, der activirte Sauerstoff immer nur als Mittel angesehen, um in dem Protoplasma vertheilte bradoxydable Stoffe zu verbrennen, und in diesem Sinne fehlen bestimmt sowohl Wasserstoffsuperoxyd als stärker wirkender activirter Sauerstoff.

Nur dann würden unsere Reagentien den activirten Sauerstoff nicht anzeigen, wenn gleichzeitig mit und neben diesem und dauernd in einem proportionalen Verhältniss Stoffe entstehen, welche noch leichter der Oxydation anheimfallen als Cyanin. Indess sprechen die empirischen Erfahrungen, wie dargethan wurde (p. 440), mit hoher Wahrscheinlichkeit gegen eine solche Annahme, zu deren Unterstützung sich überhaupt kein Grund anführen lässt. Ohnedies wäre dann die Production sehr leicht oxydabler Stoffe zu der Erzielung einer solchen Athmungsthätigkeit nothwendig, und wenn in diesem Sinne doch einmal der Stoffwechsel in Anspruch genommen wird, muss es doch einfacher dünken, dass der activirte Sauerstoff ganz entbehrlich ist, indem die fraglichen producirten Stoffe das neutrale Sauerstoffmolekül zu spalten vermögen, also autoxydabel sind.

Da unsere Reagentien jedwelche freie Entstehung von activirtem Sauerstoff anzeigen würden, so ist damit auch ausgeschlossen, dass dieser in der physiologischen Oxydation nebenbei mitwirkt, ohne die primäre Ursache dieser zu sein. Eine derartige secundäre Betheiligung des activirten Sauerstoffs ist in den Hypothesen über den

Athmungsvorgang öfters ins Auge gefasst, aber wohl wesentlich nur deshalb, weil nachweislich in manchen chemischen Oxydationsprocessen, insbesondere bei Autoxydationen, Sauerstoff activirt wird. Doch kann, wie auch schon hervorgehoben wurde (p. 444), keineswegs solche Activirung für alle Oxydationsprocesse gefordert werden und so am wenigsten für die physiologische Verbrennung, für welche wir die sich abspielenden chemischen Umlagerungen nicht näher kennen. Wenn demgemäss die secundäre Entstehung von activirtem Sauerstoff innerhalb der lebendigen Zelle empirisch widerlegt wurde, so ist damit dessen Betheiligung in extracellularen Oxydationsprocessen nicht ausgeschlossen und es ist wohl möglich, dass das Auftreten von activirtem Sauerstoff in ausgepressten Pflanzensäften u. s. w. auf solche secundäre Entstehung in Oxydationsprocessen theilweise zurückzuführen ist (vgl. Cap. 10).

Aus unseren empirischen Erfahrungen geht ganz allgemein die wichtige Thatsache hervor, dass sich relativ sehr leicht oxydable Stoffe in der lebendigen Zelle, im Zellsaft und im Protoplasma intact erhalten können. Denn im Zellsaft fallen Chromogene und Farbstoffe, im Protoplasma das imbibirte Cyanin nicht der Oxydation anheim, obgleich passiver Sauerstoff im Ueberschuss vorhanden und damit schon die Möglichkeit ausgeschlossen ist, dass diese Reagentien vor Oxydation durch Körper geschützt werden, welche dem passiven Sauerstoff leichter zugänglich sind (vgl. p. 437). Aus diesen Thatsachen folgt aber mit aller Sicherheit, dass schlechthin durch die Vertheilung eines Körpers im Protoplasma (für den Zellsaft gilt dasselbe) keine Oxydationswirkungen geschaffen werden, wie solche z. B. allgemein durch genügende Erwärmung erreichbar sind. Demgemäss kann auch die physiologische Verbrennung noch schwieriger oxydabler Stoffe, wie löslicher Kohlehydrate, organischer Säuren u. s. w., nicht durch einfache Vertheilung in dem Protoplasmakörper zu Stande kommen, vielmehr ist zur Herbeiführung der Athmungsoxydation irgend welche Wechselwirkung nothwendig, mag diese nun durch tiefer eingreifende Umsetzungen oder in irgend einer Weise erreicht werden[1]). Diese

---

1) Auch Wasserstoffsuperoxyd wird im Protoplasma nicht zu energischen Oxydationswirkungen befähigt. Das folgt einmal aus dessen relativer Beständigkeit und aus Versuchen (vgl. p. 424), in welchen Methylenblau durch Wasserstoffsuperoxyd

allgemeinsten Schlussfolgerungen dürfen wir aber als Regel für alle Pflanzen ansehen, denn die Thatsachen, auf welchen sie beruhen, wurden auch für einen Schimmelpilz nachgewiesen (p. 471). Uebrigens ist schon früher betont, dass gewisse Ausnahmen denkbar und solche vielleicht bei Gährorganismen geboten sind, welche wir überhaupt nicht in den Kreis unserer Untersuchungen zogen (p. 477).

Mit der Feststellung dieser Thatsachen ist aber eine viel engere und festere Abgrenzung des Rahmens erreicht, innerhalb dessen die physiologische Oxydation sich bewegen muss. Für eine bestimmte tiefere Klarlegung der näheren Vorgänge im Athmungsprocess fehlen zur Zeit die nöthigen Thatsachen, und wenn man in meiner früheren Discussion über mögliche Athmungsursachen diejenigen Erwägungen hinwegnimmt, welche auf activirten Sauerstoff als primäre Ursache oder als mitwirkenden Factor Bezug haben, sowie beachtet, dass mit der Vertheilung im Protoplasmakörper keine allgemeinen Oxydationswirkungen gegen einen Körper zu Stande kommen, so kennzeichnet das damals Gesagte auch die heutige Sachlage.

Dem Wesen der Sache nach, also ohne Rücksichtnahme auf die näheren Modalitäten des Processes oder der Processe, kann der oxydirende Eingriff des passiven Sauerstoffs erreicht werden, indem 1) autoxydable Stoffe oder Stoffgemische entstehen oder 2) indem für sich bradoxydable Stoffe unter den im Protoplasma gebotenen Verhältnissen den passiven Sauerstoff in sich hineinreissen. Das Gesammtresultat ist also auch im letzteren Falle Autoxydation, zu deren Erzielung indess irgend ein Zusammenwirken nothwendig ist, und durch irgendwie entwickelte Sauerstoffaffinitäten wird ja in jedem Falle das Eingreifen des passiven Sauerstoffs bestimmt und geregelt. Und da, wie ebenfalls schon hervorgehoben wurde, diese Sauerstoffaffinitäten, bei dem thatsächlich vorhandenen Ueberschuss an freiem Sauerstoff, ihre sofortige Befriedigung finden, müssen die den Eingriff des Sauerstoffs bedingenden Ursachen, gleichviel welcher Art sie sind, durch fortdauernde Neubildung die Continuität der Athmung erhalten.

Die angeführten Alternativen dürften übrigens nicht immer scharf

im Protoplasma nicht oxydirt wurde, obgleich z. B. kleine Mengen von Eisen sofortige Oxydation des Methylenblau veranlassen.

aus einander zu halten sein. Zudem lässt sich nicht sagen, ob der eigentliche Act der Athmungsoxydation in allen Fällen identisch verläuft, oder ob vielleicht sogar in derselben Zelle gleichzeitig verschiedene Ursachen den Eingriff des neutralen Sauerstoffs herbeiführen können. Ferner sind in beiden Fällen mannigfache und verwickelte Combinationen denkbar, welche aus den gesammten Eigenschaften und Thätigkeiten entspringen. Denn zu einer vollständigen Aufhellung bedarf es einer Einsicht in die vielleicht sehr mannigfachen Umwandlungen und Wechselwirkungen, welche den Athmungsprocess vorbereiten und endlich den letzten Act oder die letzten Acte der physiologischen Oxydation verursachen. Möglich, dass dieser eigentliche Oxydationsprocess sehr einfach ist, doch kann er ebensogut auch aus einer Kette von Processen zusammengesetzt sein und jedenfalls kann man, auf Grund von Beispielen der Autoxydation in todten Massen, nicht analoge Proceduren für den Protoplasmakörper, diesen complicirten Mechanismus, fordern. Mit der Thatsache, dass unter Consum von Zucker oder anderen Stoffen und unter Eingriff von Sauerstoff Kohlensäure und Wasser entstehen, ist also mit alleiniger Kenntniss der Ausgangs- und Endproducte natürlich auch in diesem Falle möglich, dass mannigfache Processe und Umsetzungen und vielleicht in sehr schneller Aufeinanderfolge sich abwickelten (vgl. p. 460).

Unter den mannigfachen möglichen Ursachen, welche in der physiologischen Oxydation mitspielen könnten, ist z. B. an Sauerstoffüberträger zu denken, d. h. an Stoffe, welche ohne eine Activirung von Sauerstoff das neutrale Molekül dieses spalten und darauf in Wechselwirkung mit anderen Körpern an diese die gebundenen Sauerstoffatome abgeben. Es ist dieses ein Austausch, welcher natürlich von der specifischen Qualität der aufeinander wirkenden Stoffe abhängt und demgemäss ist der Sauerstoffüberträger nicht befähigt, beliebige leichter oxydable Stoffe zu verbrennen (vgl. p. 440). Solche Vorgänge, deren physiologische Bedeutung M. TRAUBE[1]) schon vor längerer Zeit hervorhob, werden bekanntlich durch zahlreiche chemische Beispiele veranschaulicht. Erinnert sei z. B. daran, dass

---

1) Theorie der Fermentwirkung 1858, p. 35. Vgl. Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. I, p. 679.

Traubenzucker gelöstem Indigo gebundenen Sauerstoff entzieht, während das entstehende Indigweiss wiederum den neutralen Sauerstoff spaltet und in solchem Wechsel eine fortdauernde Oxydation des Traubenzuckers vermittelt. Auch die Schwefelsäureproduction aus schwefliger Säure unter Mithülfe von Stickoxyd ist ein bekanntes Beispiel für einen solchen fermentartig wirkenden Sauerstoffüberträger, welcher selbst ein autoxydabler Körper ist.

In solchen Vorgängen ist fortwährend Oxydation und Reduction im Spiele. Da aber beide Vorgänge nicht unmittelbar zusammenhängen müssen, so wäre denkbar, dass die Spaltung des Sauerstoffmoleküls und die zur Kohlensäureproduction führende Uebertragung der gebundenen Sauerstoffatome zwar genetisch verkettet, aber durch Zwischenprocesse und vielleicht sogar räumlich getrennt, doch in zeitlich schneller Folge im Protoplasma verlaufen. Wie in solchem Falle eine Reihe verschiedener und zum Theil vielleicht tief eingreifender Umsetzungen zusammenwirken könnten, wären solche Complicationen ebenso denkbar, wenn die physiologische Verbrennung ohne Vermittelung von Sauerstoffüberträgern zu Stande käme. Dabei bleibt aber für Sauerstoffeingriff und Kohlensäureproduction innige genetische Verkettung, die auch auf Grund der Erfahrungen gefordert werden muss. Denn ganz unabhängig von einander können beide Processe nicht sein, da, wie schon hervorgehoben wurde, mit Entziehung des Sauerstoffs in manchen Pflanzen die Kohlensäurebildung sofort auf sehr geringe Werthe zurückgeht.

Da man aber weder behaupten, noch negiren kann, dass die Athmungsvorgänge nach obigen Principien sich abspielen, so bleibt es Aufgabe fernerer Forschung, zu entscheiden, ob solches zutrifft oder ob die physiologische Verbrennung in irgend anderer Weise durch die im lebensthätigen Protoplasma gebotenen und geschaffenen Verhältnisse erreicht wird.

Unter die verschiedenen anderweitigen Möglichkeiten fällt auch Nägeli's[1]) Hypothese, nach welcher das lebendige Protoplasma in den zu verbrennenden Stoffen specifische Bewegungszustände der Moleküle und Atome erzeugt und so durch Lockerung des bisherigen Verbandes den Eingriff des neutralen Sauerstoffs herbeiführt. Aller-

1) Theorie d. Gährung 1879, p. 50.

dings in solcher Weise kann das Protoplasma nicht auf jeden verbrennlichen Körper wirken, das lehrt unzweifelhaft die Erhaltung des relativ so leicht oxydirbaren Cyanins im Protoplasma, doch ist damit nicht ausgeschlossen, dass in einem oder auch in einzelnen Körpern die nöthige intramolekulare Bewegung erregt wird, so wie ja auch nur bestimmte Töne in einer Saite Mitschwingungen erregen und die Explosion von Jodstickstoff herbeiführen. Eine Verbrennung in dem durch Nägeli's Hypothese ausgedrückten Sinne könnten also nur ganz bestimmte Stoffe erfahren. Des Sauerstoffüberschusses halber könnten aber auch diese im Protoplasma nicht angehäuft sein, sondern müssten, dem Consum entsprechend, dauernd zugeführt oder im Innern producirt werden.

Alle Hypothesen aber, mögen sie autoxydable oder für sich bradoxydable Stoffe annehmen, lassen vorbereitende Stoffmetamorphosen zu und solche müssen sogar auf Grund des Nachweises, dass im Protoplasma keine allgemeine Oxydationswirkung besteht, zumeist gefordert werden. Denn es ist ganz undenkbar, dass alle die zahlreichen Stoffe, welche, wie Kohlehydrate, Glycerin, organische Säuren, Pepton u. s. w., in Pilzen die Athmung zu unterhalten vermögen, in der lebenden Zelle direct der physiologischen Oxydation anheimfallen, welche dem ungleich oxydableren Cyanin nichts anzuhaben vermag. Ebenso kann man nicht wohl annehmen, dass alle diese heterogenen Körper, nur nicht Cyanin, durch specifische Wechselwirkungen im Protoplasma direct verbrannt werden, mag man nun diese Wechselwirkungen in besagter intramolekularer Bewegung, in Sauerstoffüberträgern oder in beliebig anderen Verhältnissen suchen.

Wird aber vorausgehender Stoffumsatz, welcher auch für Stärkekörner und andere unlösliche Körper ein Postulat ist, für Pilze, und aus gleichen Erwägungen für andere Pflanzen, sicher für sehr viele Fälle zur Nothwendigkeit, so muss es auf Grund dieser Schlüsse überhaupt am wahrscheinlichsten dünken, dass zum Zwecke der Verathmung die Stoffe irgendwie in den Stoffwechsel gerissen werden. Jedenfalls ist aber unter allen Umständen irgend eine specifische Wechselwirkung im Protoplasma nothwendig, um Körper von einer geringeren Oxydirbarkeit, als Cyanin, zu verbrennen.

Somit ist in bestimmter Weise die bedeutungsvolle Frage gestellt,

ob nur durch Einbeziehen in den Stoffwechsel — gleichviel ob während des Stoffumsatzes oder in Folge dieses — die Verathmung eines Körpers erreicht wird, und in den mitgetheilten Erfahrungen liegen auch Winke, in welcher Weise wohl eine Antwort empirisch zu ermitteln sein dürfte. Hervorgehoben mag hier werden, dass die Verathmung eines zum Unterhalt der Ernährung untauglichen Körpers für sich noch keine Entscheidung in obiger Frage abgiebt. Denn in jedem Falle wäre zunächst der Nachweis zu führen, dass thatsächlich ein solcher Stoff keine Umsetzungen erfuhr, welche auch für ernährungsuntüchtige Stoffe recht wohl möglich sind, und nach unseren Erfahrungen würde z. B. auch Oxalsäure nicht ohne mindestens specifische Wechselwirkungen im Protoplasma zur Oxydation kommen können[1]).

Einstweilen kann nicht bestimmt gesagt werden, ob der eigentliche Act der physiologischen Oxydation specifisch verschieden oder immer identisch ist. Auch letzteres wäre möglich. Denn so gut wie z. B. Schimmelpilze aus ganz heterogenen Nährstoffen Zellhaut, Proteïnstoffe u. s. w. in gleicher Qualität zu formiren verstehen, kann man ihnen auch die Fähigkeit nicht absprechen, immer denselben Stoff oder Stoffcomplex aus ganz verschiedenem zur Verathmung dienendem Material zu erzeugen. Dass aber die Abhängigkeit der Athmungsintensität von dem gebotenen Material in unseren Fragen nicht schlechthin entscheiden kann[2]), bedarf hier wohl keiner Erörterung.

Lässt sich nicht einmal sicher die allgemeine Frage beantworten, ob unter allen Umständen Stoffumsatz nothwendig ist, um den

1) Nach Nägeli (Botan. Mittheilungen 1881, Bd. 3, p. 401) können Pilze mit Oxalsäure nicht ernährt werden, doch ist damit nicht ausgeschlossen, dass dieser Körper in Verband mit anderen Nährmaterialen für den Organismus nutzbringend Verwendung finden kann. Bezüglich der Athmungsfrage ist zu bedenken, dass Oxalsäure (übrigens auch Cyanin) bei Gegenwart gewisser Stoffe am Licht oxydirt wird. Ameisensäure und Harnstoff, mit welchen Nägeli (l. c.) negative Resultate erhielt, sind nach Diakonow (Ber. d. botan. Gesellschaft 1887, p. 384) mässige Nährstoffe für Schimmelpilze. — Cyanin, doch auch Methylenblau und viele andere Farbstoffe, werden thatsächlich von Pflanzenzellen nicht verarbeitet.

2) Ebensowenig eine elective Verathmung. Ueber electiven Stoffwechsel vgl. p. 437.

oxydirenden Eingriff des passiven Sauerstoffs zu erzielen, so ist natürlich auch nichts Bestimmtes über die Qualität solcher vielleicht nothwendigen Processe zu sagen, mag es sich nun um einen autoxydablen, oder um einen für sich bradoxydablen Körper drehen. Es ist also wohl möglich, wie auch schon in meiner früheren Abhandlung hervorgehoben wurde[1]), dass im Athmungsprocess eine dauernde Zertrümmerung von Proteïnstoffen thätig ist, oder dass diese in irgend einer Weise, etwa durch fortwährende Spaltung und Regeneration, vermittelnd wirken.

In der früheren Abhandlung ist auch schon hervorgehoben, dass aus der Sistirung der Athmung mit dem Tode, aus der Thatsache, dass diese gewisse Betriebskraft zu liefern hat, und aus anderweitigen Erfahrungen über mindestens quantitative Beeinflussung durch äussere Agentien zur Zeit keine bestimmten Schlussfolgerungen über die Qualität des Oxydationsprocesses zu ziehen sind[2]).

Die Unabhängigkeit der Athmungsintensität von einem Sauerstoffüberschuss in der Zelle ist natürlich immer erreicht, sofern nur in jedem Augenblicke Sauerstoffaffinitäten in begrenzter Quantität entwickelt werden. Solches ist aber ebensowohl möglich, indem z. B. entstehendes autoxydables Material in dem Maasse verbrennt als es entsteht, oder indem, bei Gegenwart eines Sauerstoffüberträgers, sowohl die Quantität dieses, als die Menge des dauernd entstehenden bradoxydablen Körpers, die Intensität der Athmung bestimmt, oder auch wenn während eines Stoffumsatzes, und nach Maassgabe dieses, der neutrale Sauerstoff eingreift. Wenigstens dem allgemeinsten Principe nach wird der Sauerstoffconsum ebenso durch die jeweils entwickelten Affinitäten bestimmt, wenn der in einem chemischen Processe sich fortwährend entwickelnde autoxydable Phosphorwasserstoff im Augenblick seiner Entstehung eine entsprechende Quantität von molekularem Sauerstoff beschlagnahmt. Und wie in diesem Falle die Ausgiebigkeit des den Phosphorwasserstoff producirenden Processes von verschiedenen Umständen abhängig ist, kann

1) Unt. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. I, p. 676.

2) Auf die Möglichkeit, dass gewisse Oxydationen z. B. erst durch Temperaturerhöhung oder durch Licht hervorgerufen werden könnten, wurde p. 454 hingewiesen.

auch, je nach Umständen, die Thätigkeit des Protoplasmakörpers, und damit die Intensität der Athmungsoxydation, steigen und fallen.

Da aber Eigenschaft und Thätigkeit der Organismen bekanntlich einen hohen Einfluss auf den Athmungsprocess haben, so kann es nicht Wunder nehmen, dass dieser nicht immer von Veränderungen im Partiärdruck des Sauerstoffs ganz unberührt bleibt. Diese indirecten Beeinflussungen haben indess für unsere Schlüsse, betreffend die Unabhängigkeit der Athmungsgrösse von dem Partiärdruck des Sauerstoffs keine Bedeutung, denn bei sehr weiten Schwankungen dieses sind durchgehends die Abweichungen nur gering und zudem bei manchen Pflanzen fast gar nicht vorhanden. Solche Beispiele lehren u. a. die Versuche von Johannsen[1]) für den Partiärdruck des Sauerstoffs in gewöhnlicher und einer auf 15 Atmosphären comprimirten Luft kennen, und Wilson[2]) fand in Keimlingen der Sonnenrose eine Abnahme der Kohlensäureproduction erst, als der Sauerstoffgehalt der Luft auf 1% gesunken war.

Die immer nur ziemlich kleinen Schwankungen der Kohlensäureproduction bei verändertem Partiärdruck sind also als Rückwirkungen der unter diesen Umständen irgendwie veränderten Thätigkeit aufzufassen. Zeugniss für solche Modification liefert die mit dem Partiärdruck veränderliche Wachsthumsthätigkeit[3]), das Fliehen der Spirillen[4]) bei gesteigertem Partiärdruck des Sauerstoffs. Auch die von der Athmung unabhängige Tödtung der Pflanzen durch zu hohen Sauerstoffdruck ist ein Beweis, dass dieser Körper, so gut wie andere Stoffe, durch seine Quantität anderweitig den Organismus beeinflusst[5]). Und solcher Beeinflussung sind wiederum verschiedene Organismen in specifisch ungleichem Grade zugänglich. Das lehren sogleich die den freien Sauerstoff gar nicht vertragenden und die nur bei geringerem Partiärdruck gedeihenden Bacterien[6]). Auch ist wohl ver-

---

1) Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. I, p. 687.

2) Ebenda Bd. I, p. 225. Vgl. auch hinsichtlich der Protoplasmaströmung Clark, Bericht. d. bot. Gesellschaft 1888, Bd. 6, p. 273.

3) Vgl. Wieler, ebenda, Bd. I, p. 189 und Jentys, ebenda, Bd. II, p. 419.

4) Engelmann, Pflüger's Archiv f. Physiologie 1881, Bd. 26, p. 541.

5) Vgl. Jentys, l. c., p. 458.

6) Vgl. Winogradsky, Beiträge zur Morphologie u. Physiologie d. Bacterien 1880, Heft I, p. 50.

ständlich, dass, wie es der Fall zu sein scheint, unmittelbar nach dem Wechsel ein Einfluss des Partiärdruckes auf die Athmung weniger hervortritt, als nach längerem Aufenthalt in den neuen Bedingungen, unter denen allmählich die Thätigkeit der Pflanze mehr oder weniger Modificationen[1]) erleidet.

Auch die durch Sauerstoffentziehung erzielbaren Erfolge eröffnen noch keine näheren Einblicke in den Athmungsvorgang, doch sind mit Rücksicht auf diesen die intramolekularen Athmungserscheinungen stets wohl im Auge zu behalten. Denn wenn auch thatsächlich, wie es wahrscheinlich ist, normale und intramolekulare Athmung aus denselben primären Ursachen entspringen sollten, so ist doch, wie ich früher erörterte[2]), nur auf das Vorhandensein von Sauerstoffaffinitäten zurückzugehen, gleichviel wie diese Affinitäten erzeugt werden, welche durch ihr Fortbestehen anderweitige Wirkungen herbeiführen, sobald sie nicht mehr, wie bisher, ihre Befriedigung durch den neutralen Sauerstoff finden. Diese so erzielten Erfolge können aber sowohl aus mechanischen Wechselwirkungen, als Reizwirkungen entspringen, und so ist je nach specifischen Eigenschaften des Organismus, auch schon je nach Qualität des in Umsetzung tretenden Materials, nicht immer die Erzielung gleicher Reactionen, und somit auch nicht immer die Production von Kohlensäure, als eine Folge der Sauerstoffentziehung nothwendig.

Historische Bemerkungen.

Der Vollständigkeit halber mag hier nochmals[3]) ein kurzer Hinweis auf die bisherigen Hypothesen über die Causalität des physiologischen Verbrennungsprocesses Platz finden. Diese Hypothesen sehen, wie schon bemerkt, die primäre Ursache der Oxydation entweder in activirtem Sauerstoff oder in einem irgendwie erzielten Eingriff des neutralen Sauerstoffs, also allgemein gesagt in Entwickelung von Sauerstoffaffinitäten im Organismus. In letzterem Falle wird

---

1) Vgl. Godlewski, Jahrb. f. wiss. Bot. 1882, Bd. 13, p. 522; auch Bonnier et Magnin in Annal. d. scienc. naturelles 1884, sér. VI, Bd. XVII, XVIII, XIX.

2) Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. I, p. 663.

3) Vgl. Pfeffer, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. I, p. 682.

dann in manchen Theorien eine mehr oder weniger weitgehende Mitwirkung des secundär, im Processe der Oxydation, entstehenden activirten Sauerstoffs zugelassen.

Mit dem nachgewiesenen Fehlen des activirten Sauerstoffs in der Zelle sind natürlich die auf diesen gebauten Hypothesen widerlegt. Zu diesen gehört die schon besprochene Theorie HOPPE-SEYLER's[1]), nach welcher nascirender Wasserstoff das Sauerstoffmolekül spaltet und das damit frei werdende eine Sauerstoffatom die Athmungsoxydationen vollbringt. Die einzige nähere Ursache dieser ist also der atomistische Sauerstoff, welcher freilich selbst einem Autoxydationsprocess entspringt.

SCHÖNBEIN hat zwar activirten Sauerstoff (Ozon) nicht in bestimmter Weise als Ursache der Athmungsoxydationen ausgesprochen, jedoch anscheinend ein solches Causalverhältniss angenommen. Wie schon dargethan ist, berechtigen indess SCHÖNBEIN's empirische Resultate nicht zu solchen Schlüssen und ebenso hat WURSTER nur in ausgepressten Säften Activirungen beobachtet, und die auf solche Reactionen gegründeten Speculationen, bezüglich der Rolle von activirtem Sauerstoff innerhalb der lebendigen Zelle, haben keine Berechtigung[2]).

Uebrigens hat activirter Sauerstoff als primäre Ursache der Athmung in der Pflanzenphysiologie nie festen Boden gefasst, und auch in der Thierphysiologie scheint solche Annahme verlassen zu sein, seitdem PFLÜGER, auf Grund verschiedener Erwägungen, sich entschieden dagegen erklärte[3]). Entscheidende Beweise für das Fehlen von activirtem Sauerstoff in dem Protoplasmakörper selbst gab es bisher nicht, und so vermochte ich früher[4]) die Erzeugung der physiologischen Verbrennung in der Zelle durch activirten Sauerstoff nur als recht unwahrscheinlich zu kennzeichnen. Alle nicht

1) Vgl. p. 445. Die späteren Speculationen HOPPE-SEYLER's (Ueber die Entwickelung d. physiol. Chemie 1884, p. 23), nach welchen der Sauerstoff anhydrisches Protoplasma zu bilden hat, darf ich hier wohl übergehen. Jedenfalls ist schon darin gefehlt, dass das Protoplasma wie ein homogener chemischer Körper behandelt wird.

2) Vgl. p. 445, 466.

3) Vgl. HERMANN, Handbuch d. Physiologie 1882, Bd. IV, Abth. 2, p. 93.

4) Unters. a. d. Tübinger Institut. I. c., p. 678.

auf activirten Sauerstoff als primäre Ursache basirten Theorien beruhen aber, was die näheren Ursachen der Athmungsoxydation betrifft, auf Speculationen, und es genügt hier ein kurzer Hinweis auf die solchen Hypothesen zu Grunde liegenden Principien[1]).

Als Ursache des Sauerstoffeingriffs sprach ich früher[2]) einen Sauerstoffaffinitäten entwickelnden Dissociationsprocess an, welcher nach Entziehung des Sauerstoffs seine Fortdauer in der intramolekularen Athmungsthätigkeit kund gebe. Während ich die Qualität dieser Zertrümmerungen dahin gestellt und es also unbestimmt liess, ob etwa Proteïnstoffe dabei gespalten werden, suchte DETMER[3]) in einer Dissociation dieser letzteren, und speciell in dem dabei entstehenden stickstofffreien Product, die Ursache des Sauerstoffeingriffs. Später habe ich noch besonders betont, dass die vorliegenden Erfahrungen die sichere Fundirung einer bestimmten Hypothese über das Nähere des Oxydationsvorgangs nicht gestatten, dass vielleicht diese Processe nicht immer identisch sind und vielleicht aus complicirterem Zusammenwirken resultiren, in welchem möglicherweise Sauerstoffübertragung eine hervorragende Rolle spielt. Die für den Fall der Entstehung zugelassene secundäre Mitwirkung von activirtem Sauerstoff fällt mit dem Nachweis, dass dieser in der lebensthätigen Zelle nicht zur Entstehung kommt, hinweg, und dasselbe gilt für alle Theorien, welche auf solche Mitwirkung von activirtem Sauerstoff reflectirten.

SCHMIEDEBERG[4]) war nicht geneigt, der secundären Mitwirkung von activirtem Sauerstoff eine wesentliche Bedeutung beizumessen, liess übrigens die Ursachen für den Eingriff des passiven Sauerstoffs unbestimmt, wenn er auch darauf hinwies, dass man solchen Eingriff nach Analogie gewisser synthetischer Processe verwirklicht denken könnte. Eine ausgedehnte Bedeutung für activirten Sauerstoff nehmen NENCKI und SIEBER[5]) an, welche diese Activirung und die primäre Ursache der Athmung in Oxydation von Proteïnstoffen suchten. Auch

---

1) Vgl. auch PFEFFER, l. c. p. 682.

2) Landwirthschaftl. Jahrbücher 1878, Bd. 7, p. 808, 818.

3) Jahrb. f. wiss. Bot. 1879—81, Bd. XII, p. 284; Lehrbuch d. Pflanzenphysiol. 1883, p. 284.

4) Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakologie 1881, Bd. 14, p. 298.

5) Journal. f. prakt. Chemie 1882, N. F., Bd. 26, p. 30.

NASSE[1]) nahm neuerdings eine solche secundäre Wirkung des activirten Sauerstoffs in ausgedehnterer Weise an.

Auf Autoxydation und damit verknüpfte Production von Wasserstoffsuperoxyd beruht auch REINKE's Hypothese. Die weiteren Annahmen, dass die für sich autoxydablen Stoffe im Innern der Zelle wegen Mangel von passivem Sauerstoff intact bleiben und nur in der Peripherie des Protoplasmas verbrannt werden sollen, stehen mit sicheren Thatsachen in vollem Widerspruch, wie schon genügend dargethan wurde[2]). Die späterhin von REINKE[3]) supponirte allgemeine postmortale Kohlensäureproduction ist an sich unrichtig und ändert somit an der Sachlage nichts (vgl. p. 482).

Da eine allgemeine Oxydationswirkung im Protoplasma nicht besteht, so ist mit der Vertheilung der Körper in diesem die Verbrennung der verschiedensten Stoffe nicht zu erreichen, wie NÄGELI[4]) will, dessen Hypothese, wie schon gekennzeichnet wurde, intramolekulare Bewegungszustände der zu oxydirenden Körper als Ursache des Sauerstoffeingriffs anspricht.

XII. Postmortale Kohlensäureproduction.

Es wurde schon hervorgehoben (p. 483), dass eine postmortale Sauerstoffabsorption und Kohlensäureproduction wohl möglich ist, doch thatsächlich nicht allgemein zutrifft. Das gegentheilige Resultat, dass also nach der Tödtung alle Pflanzen noch reichlich Kohlensäure

---

1) PFLÜGER's Archiv f. Physiologie 1887, Bd. 41, p. 380.
2) Vgl. p. 450.
3) Bericht. d. botan. Ges. 1887, Bd. 5, p. 216.
4) Vgl. p. 492. Vielleicht schliessen sich DIAKONOW's Anschauungen hier an (Bericht. d. bot. Gesellschaft 1887, Bd. 5, p. 382). Jedenfalls ist dem Wesen nach darin nicht mehr gesagt, als dass durch irgend welche Vorgänge im Protoplasma die Körper dem neutralen Sauerstoff zugänglich werden. Bei dem unklaren Gedankengang und mangelnden Verständniss für frühere Leistungen ist schwer zu sagen, was der Verfasser eigentlich ausdrücken will, doch ist jedenfalls nichts damit gewonnen, wenn das »Lebenssubstrat« thatsächlich nur als ein Ausdruck (nicht etwa wie der Autor zu meinen scheint als eine Erklärung) für Leistungen des lebendigen Protoplasmas eingeführt wird.

bilden sollen, zu welchem Brenstein nach einer Mittheilung Reinke's[1]) kam, entspricht demgemäss nicht dem wahren Sachverhalt. Dass bezüglich dieser supponirten Allgemeinheit postmortaler Kohlensäurebildung ein Irrthum obwalten muss, haben schon Johannsen[2]) und Detmer[3]) hervorgehoben. Ebenso ergab sich keine oder keine in Betracht kommende Kohlensäurebildung nach dem Tode in Versuchen, welche ich mit Keimlingen von Pisum sativum, Secale cereale und Vicia faba durch meinen Assistenten, Herrn Dr. Klemm, ausführen liess und die hier zunächst mitgetheilt werden mögen.

Die Ausführung der Versuche geschah ganz in der früher von mir beschriebenen und durch eine Abbildung veranschaulichten Weise[4]), natürlich mit Hinweglassung der Einrichtungen und Operationen, welche in diesen früheren Versuchen die Ersetzung der Luft durch Wasserstoff forderte. Ebenso kamen ungefähr gleiche Mengen von Pflanzen zur Verwendung, für welche zunächst die normal entstehende Kohlensäure ermittelt wurde. Darauf kam der die Pflanzen enthaltende Recipient während einiger Zeit in den strömenden Dampf eines Koch'schen Sterilisirungsapparates und nach dem Abkühlen wurde von neuem auf Kohlensäureproduction geprüft. Wenn man das Abkühlen durch Einstellen des Recipienten in Wasser beschleunigt, kann der postmortale Versuch sehr bald beginnen, doch liegen auch 1 bis 2 Stunden zwischen dem Beginn dieses und der Beendigung der normalen Athmung. Alle Versuche wurden bei Lichtabschluss ausgeführt und in jedem Falle wurde vor Beginn der postmortalen Versuche einige Zeit ein kräftiger Luftstrom durch die Pflanzen gesaugt.

Zum Absorbiren diente Barytwasser in Pettenkofer'schen Röhren, zum Titriren Salzsäure mit Phenolphtaleïn als Indicator[5]). Der aus Umfüllen, Titriren etc. entspringende Fehler kann nach empirischer Ermittelung bis 0,3 ccm Salzsäure (= 0,3 mg Kohlensäure) betragen und da 25 ccm Barytwasser titrirt wurden, die Absorptionsröhre

1) Bericht. d. botan. Gesellschaft 1887, Bd. 5, p. 216.
2) Botan. Zeitung 1887, p. 763.
3) Ebenda 1888, p. 43.
4) Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen, Bd. I, p. 637.
5) Vgl. Ebenda p. 691.

aber 90 ccm fasste, so kann sich ein Gesammtfehler bis 1,1 ccm Säure (= 1,1 mg Kohlensäure) ergeben. Titreabnahmen innerhalb dieser Grenzen erlauben also nicht bestimmt auf eine Kohlensäureproduction zu schliessen.

I. Keimlinge von Secale cereale mit 2—3 cm langen Wurzeln.
Temperatur 20° C.

a) Lebende Pflanzen.

1)	Kohlensäure in 1 Std.	26,4 mg
2)	- - 1 -	23,6 -

b) Getödtete Pflanzen.

3)	Kohlensäure in 2 Std.	1,2 mg
4)	- - 2 -	0,2 -

Getödtet wurde durch 20 Min. langen Aufenthalt im Sterilisirungsapparat und der Versuch bald nachher fortgesetzt.

II. Keimlinge von Secale cereale. 10 Tage alt.
Temp. 17°—18° C.

a) Lebende Pflanzen.

	1)	Kohlensäure in 1 Std.	10,0 mg
	2)	- - 1 -	10,6 -

b) Getödtete Pflanzen.

Bald nach Tödtung:	3)	Kohlensäure in 3 Std.	0,8 mg
14½ Std. nach 2:	4)	- - 1 -	1,2 -
15½ Std. nach 2:	5)	- - 2 -	0,9 -

Getödtet durch 6 Min. langen Aufenthalt im Sterilisirungsapparat.

III. Keimlinge von Pisum sativum mit 2—4 cm langen Wurzeln.
Temp. 20° C.

a) Lebende Pflanzen.

	1)	Kohlensäure in 1 Std.	13,9 mg
	2)	- - 1 -	14,0 -

b) Todte Pflanzen.

Bald nach Tödtung:	3)	Kohlensäure in 1 Std.	3,0 mg
	4)	- - 2 -	1,9 -

15 Std. nach 4:	5) Kohlensäure in 1 Std.		1,2 mg
	6) - - 1 -		0,2 -
	7) - - 1 -		0,6 -

Getödtet wie in Versuch II.

IV. Keimlinge von Vicia faba (kleinsamige Form) mit 5—8 cm langen Wurzeln.

Temp. 19°—20° C.

a) Lebende Pflanzen.

1) Kohlensäure in 1 Std. 18,8 mg

b) Todte Pflanzen.

$1\frac{1}{2}$ Std. nach Tod:	2) Kohlensäure in 2 Std.	0,6 mg
	3) - - 3 -	1,0 -
16 Std. nach 3:	4) - - 3 -	0,8 -

Getödtet durch 20 Min. Aufenthalt im Sterilisirungsapparat.

Aus diesen Versuchen mit verschiedenen Keimpflanzen ist zu ersehen, dass die ansehnliche Athmungsthätigkeit mit der Tödtung in siedendheissem Wasserdampf erlosch und es bleibt fraglich, ob überhaupt in den angewandten, übrigens für Athmung günstigen Temperaturen, in den todten Pflanzen noch Kohlensäure entstand. Denn die geringen Titreabnahmen, welche in den Versuchen als producirte Kohlensäure (0,2—1,2 mg) erscheinen, überschreiten die gekennzeichnete Fehlergrenze (1,1 mg) nicht oder kaum und es ist nicht zu verwundern, dass diese Fehler einseitig ausfallen, da z. B. Aufnahme von Kohlensäure aus der Luft während dem wiederholten Umfüllen und auch wohl der Einfluss der Glaswandungen auf eine Verminderung des in Lösung befindlichen Baryumoxyds hinarbeiten. Und wir dürfen in der That auf solche Ursachen die kleine Titreabnahme schieben, da diese bei 1- und 8stündiger Versuchsdauer keine Steigerung erkennen lässt, aber auch der wesentlichste, durch die Kohlensäureabsorption aus der Luft entspringende Fehler nur von der Zahl der Umfüllungsoperationen, nicht von der Versuchsdauer abhängig ist.

Ob die geringe Kohlensäureentwickelung, welche Pisum bald nach der Tödtung ergab, von in den Pflanzen absorbirter oder irgendwie frei werdender Kohlensäure herrührte, muss dahin gestellt

bleiben, und ich hatte auch keinen Grund, nach Aufhellung dieser Frage zu streben. Denn das lehren unsere Versuche in jedem Falle, dass mit dem Tode die Athmungsoxydationen in unseren Pflanzen erlöschen.

Uebereinstimmend fand Detmer[1]) völligen Stillstand der Kohlensäureproduction in Keimpflanzen von Triticum vulgare und Pisum sativum und in Blüthen von Pavia rubra, nachdem er diese durch 70—80° C. getödtet hatte und etwa 2 Stunden darauf dem Versuche unterwarf. Ferner constatirte Johannsen[2]) allmähliche Abnahme der Kohlensäureproduction und endlich gänzlichen Stillstand dieser, als er Keimlinge (Mais, Gerste, Erbsen) entweder durch hohen Sauerstoffdruck oder durch 45—55° C. langsam zum Absterben brachte. Nach einer oder nach einigen Stunden begann aber wieder eine mit der Zeit sich steigernde Kohlensäureentwickelung. Gleichviel wie diese zu Stande kam, das Einstellen der Kohlensäurebildung zunächst nach dem Tode beweist jedenfalls, dass diese postmortale Kohlensäurebildung einem von der physiologischen Verbrennung wohl zu unterscheidenden Process entsprang.

Für solche postmortale Kohlensäureentwickelung sind übrigens auch verschiedene Ursachen möglich. Eine nur vorübergehende Entwickelung könnte von absorbirter oder locker gebundener Kohlensäure herrühren oder auch in concreten Fällen aus Carbonaten entspringen, welche nach dem Tode mit saurem Zellsaft in Berührung kamen. Ausserdem sind aber Verhältnisse bekannt, welche recht wohl zu länger andauernder postmortaler Kohlensäurebildung führen könnten. So wurde in dieser Abhandlung wiederholt gezeigt (p. 447), dass mit der postmortalen Mischung verschiedene Stoffe oxydirt werden, welche mit dem Leben sich intact erhalten. Ob gerade in den genannten Fällen mit dem Sauerstoffeingriff eine Kohlensäurebildung Hand in Hand geht, muss ich dahin gestellt lassen. Doch ist wohl möglich, dass Kohlensäure in solchen postmortalen Processen (sei es mit oder ohne Bildung farbiger Oxydationsproducte) entsteht und vielleicht vollzieht sich auch ein Theil der Veränderungen, welche

---

1) Landwirthschaftl. Jahrbücher 1882, Bd. 11, p. 231. Vgl. Botan. Zeitung 1888, p. 43.

2) Botan. Zeitung 1887, p. 763.

wir z. B. als Humification bezeichnen, ohne Mitwirkung von Bacterien.

Es ist aber auch wohl möglich, dass verschiedene Pflanzen und selbst dieselben Pflanzen, je nach den Versuchsbedingungen, ein ungleiches Resultat liefern. Ich erinnere u. a. daran, dass in nicht wenigen Stoffen mit Herbeiführung alkalischer Reaction die Oxydation erst eingeleitet oder doch sehr beschleunigt wird, dass ferner in gleichem Sinne gewisse Beimengungen wirken können, so z. B. die Gegenwart von activirenden Stoffen, die in Pflanzensäften vielfach vorhanden sind (vgl. p. 447). Da diese activirenden Stoffe durch Aufkochen zerstört werden, so müssen nach Erhitzen die von ihnen abhängigen Oxydationen erlöschen, während in anderen Vorgängen der Sauerstoffeingriff zumeist mit der Temperatur gesteigert wird. Schon durch solche Erwägungen wird es auch verständlich, dass für sich oder doch unter den in der lebenden Zelle gebotenen Verhältnissen bradoxydable Stoffe mit dem Tode den neutralen Sauerstoff spalten können. Auch für Glycose ist z. B. bekannt, dass sie in alkalischer Lösung und mit steigender Temperatur in erhöhtem Grade oxydirt wird.

Im allgemeinen werden sogleich oder bald nach der Tödtung die während des Lebens räumlich getrennten Stoffe zusammentreten, und Versuche, in welchen solches zutrifft, entscheiden nicht, wie bei Verhinderung solcher Mischung das Resultat sich gestalten würde. Massgebende Versuche in dieser Richtung giebt es nicht. Möglich, dass z. B. bei gesteigertem Sauerstoffdruck zunächst Tödtung ohne sofortige Sistirung der diosmotischen Eigenschaften der Plasmahäute[1]) in einer Zelle eintritt, doch sterben in solchem Falle die Zellen sicherlich ungleichzeitig ab und so mögen wohl Zellen noch lebendig gewesen sein, als in anderen sich bereits Zellsaft und Protoplasma gemischt hatten. Aehnliches gilt offenbar z. B. für die Tödtung mit Aether, und die in manchen Pflanzen bald eintretende Farbenänderung zeigt zum Theil die postmortale Mischung der Säfte an. Diese war aber in jedem Falle in den Versuchen BRENSTEIN's erreicht, in welchen die Kohlensäureproduction erst nach längerer Einwirkung des Aethers bestimmt wurde.

---

1) Vgl. PFEFFER, Osmotische Untersuchungen 1877, p. 135.

Es ist übrigens keineswegs gleichwerthig, ob Pflanzen durch Siedetemperatur oder durch andere Mittel getödtet werden. Denn im ersten Falle werden, wie schon durch Schönbein bekannt wurde, die activirenden Eigenschaften vernichtet, welche den kalt ausgepressten Pflanzensäften zukommen. Diese activirenden Eigenschaften dürften sich auch bei Tödtung durch comprimirten Sauerstoff oder zwischen 45—55° C. erhalten haben und es muss in Erwägung gezogen werden, ob in den Versuchen Johannsen's in Folge dieser Tödtungsweise die Kohlensäurebildung zunächst stille stand, um nach einigen Stunden wieder zu beginnen. Gleiche Sachlage mag wohl auch bei Tödtung durch Aether geboten sein. Da indess Brenstein ebenso bei Tödtung durch Siedetemperatur postmortale Kohlensäureproduction fand, so haben wir, wenigstens mit Rücksicht auf Brenstein's Resultate, die differente Tödtungsart nicht näher zu discutiren.

In Erwägung des Gesagten kann also eine postmortale Kohlensäureproduction durchaus nicht überraschen, aber es ist ebenso klar und auch schon hervorgehoben (p. 483), dass solche Kohlensäurebildung von den Oxydationsvorgängen in der Athmung lebendiger Organismen wohl zu unterscheiden ist. Diese Differenz wird auch scharf durch die Thatsache gekennzeichnet, dass in bestimmten Pflanzen zunächst oder auch längere Zeit nach dem Tode Kohlensäure nicht oder doch nicht in nennenswerther Menge entsteht, wie es durch Versuche von Detmer, Johannsen und uns festgestellt ist. Es ist aber auch klar, dass eine relativ geringe postmortale Kohlensäurebildung keine Bedeutung hat und es deshalb nicht darauf ankam, noch näher in unseren Versuchen zu bestimmen, ob postmortal keine Spur von Kohlensäure entsteht. Entscheidend ist ja, dass die im Leben lebhaft athmenden Pflanzen nach dem Tode in derselben Temperatur nicht oder kaum Kohlensäure lieferten. Mit Rücksicht auf die Athmung hatte es also auch keine Bedeutung zu prüfen, ob etwa mit steigender Temperatur in den todten Pflanzen Kohlensäure reichlicher entsteht, denn die postmortale Oxydation ist ja bestimmt als ein von der physiologischen Verbrennung wohl zu unterscheidender Vorgang gekennzeichnet. Es ist also in jedem Falle ein Fehler, unter gänzlicher Vernachlässigung der mit dem Tode herbeigeführten neuen Bedingungen, wie es Reinke that, Uebereinstimmung der vitalen und postmortalen Oxydationsvorgänge anzunehmen.

Da aber für concrete Fälle festgestellt ist, dass die Kohlensäurebildung sogleich mit dem Tode erlischt, hatte es für die Athmungsfrage keine Bedeutung zu erforschen, in wie weit ein verschiedenes Resultat durch die Natur der Pflanzen, durch die Art der Tödtung oder durch andere Versuchsbedingungen herbeigeführt werden kann. Natürlich ist in keinem Falle Rücksicht auf Versuche zu nehmen, in welchen die Mitwirkung von Bacterien nicht ausgeschlossen ist[1]). Da Johannsen es unentschieden lässt, ob die von ihm beobachtete, erst einige Zeit nach dem Tode beginnende Kohlensäurebildung unabhängig von Bacterien war, bleibt es auch unentschieden, ob Johannsen überhaupt einen von lebendigen Organismen unabhängigen postmortalen Oxydationsvorgang beobachtete. Sollte dieses zutreffen, so dürfte wohl die Art der Tödtung einen Einfluss auf die postmortale Kohlensäurebildung haben.

In die Versuche Brenstein's gestatten die mir allein bekannten vorläufigen Mittheilungen begreiflicherweise keine genügende Einsicht, doch dürfte eine volle Aufklärung der von jenem erhaltenen Resultate auch nur durch eine Nachuntersuchung zu erhalten sein. In der Natur der angewandten Pflanzen dürften die abweichenden Resultate Brenstein's nicht begründet sein, denn Keimpflanzen von Gerste und Weizen wurden auch von Johannsen, resp. Detmer, aber mit negativem Erfolg geprüft. Mit Johannsen (l. c.) ist aber hervorzuheben, dass, soweit die vorläufige Mittheilung ersehen lässt, Brenstein die Kohlensäure bestimmte, welche während längerer Zeit (24 Stunden) nach dem Tode sich gebildet hatte. Es musste also auch dann ein positives Resultat erhalten werden, wenn einige Zeit nach dem Stillstand der Athmung wieder, wie in den Versuchen Johannsen's, postmortale

1) Dieserhalb sind, wie ich schon früher hervorhob (Pflanzenphysiol. Bd. I, p. 351), ältere Angaben über postmortale Kohlensäurebildung nicht beweiskräftig. Aus neuerer Zeit giebt übrigens Chatin (Compt. rend. 1885, Bd. 101, p. 1459) übereinstimmend mit Brenstein an, dass durch Kochen getödtete Pflanzentheile, und zwar nur bei Gegenwart von Sauerstoff, Kohlensäure bilden. Diese Production wird nach Chatin durch Ansäuerung gehemmt oder selbst aufgehoben, durch Alkalien aber gefördert. Sofern hier Bacterien ausgeschlossen sein sollten, würden sich damit vielleicht Differenzen der postmortalen Kohlensäurebildung erklären. — Ferner berichtet Schloesing (Ebenda 1888, Bd. 106, p. 1293) von Kohlensäureentwickelung aus sterilisirten Tabakblättern, die beim Erwärmen auf 70° gesteigert wurde.

Kohlensäurebildung begann. Freilich erhielt Brenstein ein positives Resultat beim Tödten durch siedend heissen Wasserdampf, während bei solchem Verfahren in unseren Versuchen nach 18 Stunden Kohlensäureproduction noch nicht eingetreten war.

Findet aber postmortale Kohlensäurebildung statt, so müssen in dieser natürlich auch Körper oxydirt werden und der Consum von Glycose, welchen Brenstein angiebt, ändert nichts in der nothwendigen Unterscheidung postmortaler und vitaler Oxydation. Aus dieser Thatsache folgt dann nur, dass postmortal auch an sich bradoxydable Stoffe dem Sauerstoff anheimfallen. Dagegen ist die Einstellung der Kohlensäurebildung in todten Pflanzen bei Entziehung des Sauerstoffs nur ein weiterer Beweis, dass in lebenden Pflanzen andere Verhältnisse obwalten, da ohne Sauerstoff in diesen Kohlensäureproduction durch intramolekulare Athmung stattfindet.

Nach der vorläufigen Mittheilung stellten sich in den Versuchen Brenstein's keine Bacterien ein. Dem Auftreten dieser wurde auch theilweise durch Aether vorgebeugt und es kamen auch durch Aether getödtete Pflanzen zur Verwendung. Durch Aether kann aber thatsächlich Barytwasser eine Titreabnahme erfahren, und da ich diese mögliche Fehlerquelle in der vorläufigen Mittheilung nicht erwähnt finde, scheint es mir geboten, diesen Punkt nicht stillschweigend zu übergehen.

Durch Aether wird nämlich die Löslichkeit des Baryumhydroxyds vermindert und demgemäss scheiden sich eine grosse Menge krystallinischer Blättchen aus, wenn man eine concentrirte Lösung von Baryumhydroxyd mit Aether schüttelt und so mit diesem Körper sättigt. Nach solcher Operation bedurften 100 ccm des vom Niederschlag abgehobenen Barytwassers 360,8 ccm unserer Salzsäure (entsprechend 360,8 mg Kohlensäure) weniger als zuvor[1]). Auch verdünntes Barytwasser (ungefähr 1 Theil gesättigtes mit 2 Theilen Wasser) ergab bei solcher Behandlung für 100 ccm eine Titreabnahme um 14,8 ccm Salzsäure (entsprechend 14,8 mg Kohlensäure). Diese Abnahme des Titres fällt wesentlich auf Ausscheidung von Baryumhydroxyd, und nur

1) 25 ccm Barytwasser brauchten zur Neutralisation vor der Behandlung mit Aether 146,8 ccm Salzsäure, nach der Behandlung 56,6 ccm Salzsäure (1 ccm = 1 mg Kohlensäure).

zum kleinsten Theil auf die Volumzunahme durch Auflösung des Aethers[1]).

Bringt man aber in den sonst die Pflanzen aufnehmenden Recipienten Aether, so wird dieser leichtflüchtige Körper mit einem durchgehenden Luftstrom in die Barytröhren übergeführt und, bei Einhaltung unserer Versuchsbedingungen, wurde bei einstündigem Durchleiten von Luft der Titre des oben erwähnten verdünnteren Barytwassers erheblich herabgedrückt und wäre bei erhöhter Temperatur noch schneller vermindert worden. Diese Titreabnahme kann natürlich auch schon vor Sättigung des Barytwassers mit Aether eintreten, hängt übrigens selbstverständlich von einer Reihe hier nicht näher zu erörternder Bedingungen ab, so von der Menge des zugeführten Aethers, der Menge und der Concentration des Barytwassers. Uebrigens absorbiren Kautschukstopfen und Kautschukschläuche so viel Aether, dass schon beim nachherigen Verwenden dieser eine Titreabnahme des in die Absorptionsröhren gefüllten Barytwassers erreicht werden kann.

Ob in den Versuchen Brenstein's in besagter Weise eine Titreabnahme des vorgelegten Barytwassers veranlasst wurde, kann ich nach der mir vorliegenden Mittheilung nicht beurtheilen, die, wie gesagt, diese nahe liegende Fehlerquelle nicht erwähnt. Uebrigens hat Brenstein, so weit ich zu ersehen vermag, auch ohne Aether operirt, und die in diesen Versuchen nach der Titreabnahme von Barytwasser bemessene Kohlensäure muss also anderen Ursprung haben.

Nachträgliche Bemerkung.

Erst nachträglich erhielt ich Kenntniss von der als Rostocker Dissertation erschienenen Schrift Brenstein's, Ueber die Production von Kohlensäure durch getödtete Pflanzentheile 1887. — Ohne entsprechende Experimente dürfte, wie ich schon bemerkte, nicht aufzuklären sein, warum Brenstein's Versuche postmortale Kohlensäurebildung ergaben. — Dass durch Auflösung von Aether Baryumhydroxyd ausgefällt wird, ist aber von Brenstein übersehen. Dabei

---

1) Die Löslichkeit von Aether in Barytwasser wurde nicht ermittelt. Bei 17,5° lösen 12 Theile Wasser 1 Theil Aether.

war das angewandte Barytwasser, nach dem auf Seite 22 angeführtem Beispiel zwar nicht gesättigt, doch so concentrirt, dass eine Ausscheidung von Baryumhydroxyd schon vor der vollen Sättigung mit Aether eintreten musste.

XIII. Blicke auf Reductionsvorgänge in der lebenden Zelle.

Die Erwägungen über Causalität des Athmungsprocesses führen unvermeidlich auf die Frage, ob und in wie weit mit oder in Beziehung zu jenem in der lebendigen Zelle Reductionen, d. h. abgesehen von der Zerreissung des passiven Sauerstoffmoleküls, Entziehungen von Sauerstoffatomen aus anderen Körpern stattfinden oder erzielt werden können. Eine derartige Reduction wäre auch im Spiele, wenn nach dem Schema von Sauerstoffüberträgern irgend welche Stoffe das Sauerstoffmolekül spalten und die so angelagerten Sauerstoffatome dann an den zu verbrennenden Körper überwandern (p. 491). Es muss aber auch nothwendig die Frage aufgeworfen werden, ob die zur Spaltung des Sauerstoffmoleküls führenden Ursachen, also allgemein gesagt, die in der lebendigen Zelle entwickelten Sauerstoffaffinitäten, nicht anderweitig Befriedigung finden und dieserhalb z. B. Wirkungen erzielen können, wenn die Zufuhr des passiven Sauerstoffs abgeschnitten wird, oder wenn andere den Sauerstoff leicht abgebbare Körper zugegen sind. So wie vermuthlich der passive Sauerstoff in der Athmung durch Wasserstoffdioxyd ersetzbar ist, dürften wohl auch anderen Körpern locker gebundene Sauerstoffatome durch die im Athmungsprocess entwickelten Sauerstoffaffinitäten entrissen werden können, sofern solche geeignete Stoffe in das lebensthätige Protoplasma einführbar sind. Vielleicht dass solche Entreissungen in gegebenen Fällen erst durch Mangel des passiven Sauerstoffs herbeigeführt werden, und auf dem allgemeinen Gedanken, dass bei solchem Mangel die fortentwickelten Sauerstoffaffinitäten anderweitige Wirkungen direct und indirect erzielen, beruht meine Anschauung über die Ursache der intramolekularen Athmung und ihre genetische Verknüpfung mit der Sauerstoffathmung,

eine Theorie, welche ich zwar nicht streng beweisen, aber immerhin wahrscheinlich machen konnte[1]).

Fragen obiger Art stehen also im innigsten Zusammenhang mit dem Athmungsvorgang und ihre Aufhellung kann vielleicht einmal für gewisse Phasen des Athmungsprocesses Licht verbreiten. In solchem nutzbringenden Sinne vermag ich freilich die mir derzeit vorliegenden Thatsachen noch nicht weiter zu verwerthen und da ich eingehendere Studien mit Rücksicht auf diese Fragen nicht anstellte, kann es sich hier wesentlich nur um einen orientirenden Hinweis handeln. Die Verwerthung der Thatsachen ist übrigens auch hier zumeist mit den aus den Eigenheiten des complicirten Organismus entspringenden Schwierigkeiten verknüpft und, wie überhaupt (p. 460), ist auch hier mit einfacher Kenntniss der Producte noch nichts über die vielleicht mannigfachen Proceduren gesagt, welche zur Entstehung führten. Werden also speciell, wie es ja oft zutrifft, reducirte Körper gebildet, so ist zunächst fraglich, ob ihre Production überhaupt im Zusammenhang mit dem Athmungsprocess steht und wenn, ob dieser Zusammenhang ein directer oder vielleicht nur durch Reizwirkungen vermittelter ist. Diese Fragen sind auch noch nicht für die Producte der intramolekularen Athmung und so auch z. B. nicht für den Wasserstoff aufgehellt, welcher in Folge der Sauerstoffentziehung in manchen Mannit führenden Pflanzen in Entstehung tritt. Bei solcher Sachlage ist es auch unmöglich, auf Grund der potentiellen Energie des Ausgangsmaterials und vereinzelter Producte Erwägungen anzustellen, welche Kenntniss der Gesammtheit von Umsetzungen in

1) Pfeffer, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen, Bd. I, p. 663. — Wenn ich Diakonow (Bericht. d. bot. Gesellschaft 1886, Bd. 4, p. 2 u. 411) recht verstehe, so scheint dieser mit Gleichstellung von intramolekularer Athmung und Gährung zugleich eine genetische Verkettung mit der normalen Athmung als ausgeschlossen anzusehen. Thatsächlich ist aber jener Zusammenhang von Gährung und intramolekularer Athmung überhaupt nicht angezweifelt (Pfeffer, l. c. p. 668) und ich habe ausdrücklich dargethan (l. c. p. 668), wie bei solchem Zusammenhang intramolekulare und normale Athmung recht wohl causal verkettet sein können. Uebrigens sind schon in meiner oben citirten Abhandlung die Versuche Diakonow's mit Schimmelpilzen berücksichtigt, welche dieser auf meine Veranlassung in Tübingen ausführte. Ueber anderweitigen Stoffumsatz in der intramolekularen Athmung vgl. Palladin, Bericht. d. botan. Gesellschaft 1888, Bd. 6, p. 270, 296.

qualitativer oder auch quantitativer Hinsicht fordern. Aber so gut, wie bezüglich der Athmungsoxydation, folgt aus diesen Ueberlegungen und der Abhängigkeit des Austausches von Sauerstoffatomen von der specifischen Qualität der in Wechselwirkung tretenden Körper, dass aus dem Verhalten eines einzelnen, möglicherweise gar nicht unter den gebotenen Verhältnissen in Umsetzung tretenden Körpers, kein Maassstab gewonnen wird für die innerhalb des Protoplasmas zur Wirkung kommenden Affinitäten, also speciell auch für die Sauerstoffumlagerungen in Reductions- und Oxydationsprocessen (vgl. p. 489).

In diesem Sinne sind auch die Erfahrungen zu beurtheilen, nach denen, weder bei Mangel noch bei Anwesenheit von Sauerstoff, eine allgemeine und energische Reductionswirkung sich nicht in der lebenden Zelle geltend macht. Dieses negative Resultat wurde für das Protoplasma mit Methylenblau und Safranin, für den Zellsaft mit Methylenblau und dem Oxydationsproduct des Chromogens von Faba erhalten, also mit Farbstoffen, die unter Sauerstoffentziehung in Leucoproducte übergehen können, indess nicht zu den besonders leicht reducirbaren Stoffen gehören.

Die oben genannten künstlichen Farbstoffe werden aber durch gährende Hefe reducirt und gehen in Leucoproducte über, welche an der Luft wieder unter Aufnahme von Sauerstoff in die Farbstoffe sich zurückverwandeln. Diese Reduction hängt indess, wie bekannt[1]), durchaus von der Gährthätigkeit ab und ich fand dieses auch für Methylenblau bestätigt, das durch gährende Hefe eher leichter als Indigolösung reducirt wird, dagegen, so gut wie letzteres intact blieb, als mit Milchzucker ernährte Bierhefe bei Luftabschluss auf diesen Farbstoff wirkte. In diesen Versuchen wurde frische und kräftige Bierhefe in 2 proc. Milchzuckerlösung mit 0,0002 bis 0,0008 % Methylenblau versetzt und dann die Luft durch Wasserstoff aus der Kochflasche verdrängt. Die Flüssigkeit erhielt sich dauernd gefärbt, während nach Zusatz von Traubenzucker sehr bald nach Verdrängung des Sauerstoffs Entfärbung eintrat. Dagegen vermochte eine auf

1) Vgl. Nägeli, Theorie d. Gährung 1879, p. 40, 50; Traube, Theorie d. Fermentwirkung 1858, p. 63. — Ueber Reductionsthätigkeiten niederer Organismen vgl. auch Spina, Centralblatt f. Bacteriologie 1887, Bd. 2, p. 71; Raulin, Ebenda 1888, Bd. 4, p. 620.

2 proc. Traubenzuckerlösung erzogene kräftige Cultur von Penicillium glaucum das zugeführte Methylenblau (0,0004 %) bei Entziehung des Sauerstoffs nicht zu reduciren.

Diese Resultate mit Methylenblau haben insofern Bedeutung, als dieser Farbstoff, nicht aber Indigo und Lacmus, in die Zelle eindringt[1]). Demgemäss vermag die nicht gährende Hefe intracellular kein Methylenblau zu reduciren und verhält sich in dieser Hinsicht wie die Zellen höherer Pflanzen und wie Penicillium. In welcher Weise die besagte, auch extracellular mögliche Reduction durch die Gährthätigkeit vermittelt wird, ob dabei Secrete oder nur von der thätigen Zelle ausgehende Molekularbewegungen im Spiele sind[2]), das ist nicht nöthig hier zu discutiren, da wir ohnehin die Gährthätigkeiten als besonders entwickelte Eigenschaften nicht in den Kreis unserer Betrachtungen zogen.

Aus solchen negativen Resultaten folgt aber, wie aus dem oben Gesagten hervorgeht, nicht, dass in der lebendigen Zelle Reductionen nicht in anderen eingeführten Körpern zu Stande kommen können; im Gegentheil, es ist ein positiver Erfolg mit Sicherheit zu erwarten, sofern nur die Einführung geeigneter Stoffe gelingt[3]). Das ist schon allein aus der Erwägung zu entnehmen, dass die lebende Zelle Körper enthält, wie Glycose, Gerbsäure, Chromogene, welche für sich allein unter bestimmten Bedingungen aus gewissen Körpern Sauerstoff an sich reissen können. So ist es auch denkbar, dass es einmal möglich wird, die im Protoplasma als Ursache der Athmung entwickelten Sauerstoffaffinitäten durch eine sichtbare Reaction zur Anschauung zu bringen und zu controliren. Ohnehin ist zu bedenken, dass die zu den erwähnten Versuchen benutzten Farbstoffe Körper sind, welche nicht allzu leicht Sauerstoff abgeben.

Aber mit der Mischung räumlich getrennter Stoffe nach dem Tode kommen, bezüglich der Reductionswirkungen, ebensogut neue Bedingungen zu Stande, wie hinsichtlich der Oxydationswirkungen und so ist es auch mit Bezug auf jene nicht zulässig, ohne

---

1) Vgl. dazu p. 474.

2) Vgl. Pfeffer, Pflanzenphysiologie Bd. I, p. 367.

3) Ich sehe hier von Wasserstoffsuperoxyd und ebenso von passivem Sauerstoff ab, denen beide ja Sauerstoffatome in Oxydationsvorgängen entrissen werden.

weiteres aus den an todten Pflanzentheilen und ausgepressten Säften gewonnenen Resultaten massgebende Rückschlüsse auf die lebendige Zelle zu machen, in welcher zudem sich Umsetzungen abspielen, die mit dem Leben erlöschen. Zu den erst mit dem Tode eintretenden Reactionen gehören auch die von Loew und Bokorny[1]) in einer unwissenschaftlichen Weise interpretirten Reductionen, welche Pflanzen in verdünnter alkalischer Silberlösung erzielen. Auch Wurster konnte mit seinen Reagenspapieren, wie schon bemerkt wurde (p. 467), nur Reactionen der aus der todten Zelle getretenen Säfte beobachten. Damit soll natürlich nicht die Möglichkeit geleugnet werden, dass diese Reagentien oder dass Silberlösung, sofern deren Einführung in die lebendige Zelle gelingt, nicht auch in dieser Reductionen erfahren[2]).

Die genannten Reductionen durch gährungsthätige Organismen lehren, dass Zellen specifische Eigenthümlichkeiten besitzen können, die natürlich auch ohne Gährthätigkeit zulässig sind. Es ist also wohl möglich, dass in bestimmten Zellen Methylenblau oder Safranin entfärbt werden. Für Pflanzen ist noch kein Beispiel bekannt; in den Epithelzellen der Kaninchenniere soll dagegen nach Dreser[3]) aus Methylenblau, nicht aber aus Indigcarmin, die Leucofarbe entstehen. Ob die von Ehrlich[4]) im animalischen Organismus verfolgte Reduction von Methylenblau intracellular oder extracellular stattfand, weiss ich nicht zu entscheiden und, abgesehen von dieser Unbestimmtheit, sind die von Ehrlich[5]) mit Indophenolweiss und Alizarinblau erhaltenen Resultate nicht einwurfsfrei, wie von Wurster und Gad gezeigt wurde.

---

1) Vgl. die Kritik in Flora, 1889, p. 46.

2) Die Lösungen von Gold, Silber u. s. w. sind ziemlich starke, z. Th. sehr starke Gifte und ein Eintritt in die Zelle ist, ohne Schädigung dieser, noch nicht direct beobachtet. Gelänge die Einführung, so dürften wohl ziemlich gewiss Metallausscheidungen zu erwarten sein. Ob vielleicht Osmiumsäure in sehr grosser Verdünnung in Zellen ohne Schädigung zu bringen ist, bedarf auch noch der Prüfung. Vgl. Gierckе, Färberei zu mikroskop. Zwecken 1885, p. 74.

3) Zeitschrift f. Biologie 1885, N. F., Bd. 3, p. 48, 54, 63.

4) Deutsche medicin. Wochenschrift 1886, Nr. 4.

5) Das Sauerstoffbedürfniss d. Organismus 1885, p. 30, 72. Vgl. diese Abhandlung p. 426 und ebenso Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen Bd. II, p. 271.

Die Unfähigkeit des Zellsaftes verschiedener Pflanzen, das gespeicherte Methylenblau nach Entziehung des Sauerstoffs zu reduciren, wurde schon früher[1]) von mir nachgewiesen. Ebenso zeigte ich[2]), dass auch der Protoplasmakörper das Methylenblau nicht reduciren kann, da dasselbe, selbst bei Fehlen von Sauerstoff, als blauer Farbstoff im Zellsaft gespeichert wird. Aus schon mitgetheilten Versuchen (p. 423) folgt ferner, dass die normal thätigen Zellen der Wurzeln von Trianea, Azolla, Lemna aus dem durch Wasserstoffsuperoxyd erhaltenen farblosen Oxydationsproduct des Methylenblaus diesen Farbstoff nicht zu regeneriren vermögen. Endlich ist die mitgetheilte Nichtfärbung des Protoplasmas in den Wurzelhaaren von Trianea bei gleichzeitigem Eindringen von Methylenblau und Wasserstoffsuperoxyd ein Beweis, dass die Nichtspeicherung dieses Farbstoffs in einer Reduction zu farbloser Leucofarbe nicht begründet ist (p. 424).

Das Verbleiben der leichtesten durch Wasserstoffsuperoxyd erreichten Oxydationsfärbung im Zellsaft von Faba ist weiter ein Beweis, dass dieser so entstandene Farbstoff in der Vacuolenflüssigkeit der lebensthätigen Zelle nicht wieder zu farblosem Chromogen reducirt wird (p. 431).

Für Safranin, das schwieriger reducirt wird als Methylenblau[3]), konnte ich keine Entfärbung bemerken, als ich Wurzelhaaren von Trianea, deren Protoplasma schön roth gefärbt war, langsamer oder schneller durch Ueberleiten von Wasserstoff in einer Gaskammer den Sauerstoff entzog. Es ist aber eher wahrscheinlich, dass unter solchen Umständen eine Reduction gelingt, wenn man einen Farbstoff anwenden kann, der leicht zu einem Leucoproduct wird. Der verhältnissmässig leicht reducirbare Farbstoff aus Dimethylparaphenylendiamin färbt leider das Protoplasma von Trianea zu schwach (p. 425), um in Versuchen dieser Art ein gutes Reagens abgeben zu können.

---

1) Unters. a. d. botan. Institut in Tübingen Bd. II, p. 284.
2) Ebenda p. 279.
3) Vgl. PFEFFER, l. c., p. 279.

XIV. Zusammenfassung einiger Resultate.

Wasserstoffsuperoxyd dringt leicht in den Protoplasmakörper, aber nur schwieriger durch Cuticula und überhaupt durch Zellwände, welche Wasser schlecht passiren lassen.

Ist die Zellwand durchlässig, so gelangt Wasserstoffsuperoxyd selbst aus sehr verdünnten Lösungen schnell bis in den Zellsaft lebendiger Zellen. Wasserstoffsuperoxyd ist also in kleinen Mengen ohne Schädigung im Protoplasmakörper existenzfähig und erleidet in diesem anscheinend keine grössere Zersetzung, als durch viele, an sich nicht oxydable todte Körper.

In manchen Pflanzen bewirkt Wasserstoffsuperoxyd durch Oxydation Färbungen oder Entfärbungen im Zellsaft, also Reactionen, welche das Eindringen des Wasserstoffsuperoxyds in den Zellsaft anzeigen.

Solche Oxydationen erfahren indess nicht alle Farbstoffe oder Chromogene und in manchen Pflanzen unterbleibt eine Reaction sogar, wenn im Zellsaft ein Chromogen vorhanden ist, welches nach dem Tode durch den passiven Sauerstoff gefärbt wird. Es erklärt sich solches daraus, dass Wasserstoffsuperoxyd vielfach erst durch die Gegenwart gewisser Stoffe zu kräftigerer Oxydationswirkung befähigt wird und dass eine solche Vermittelung nicht in jedem Zellsaft geboten ist.

Der ungleichen Oxydationsfähigkeit halber ruft Wasserstoffsuperoxyd bei manchen Pflanzen unmittelbar mit dem Eintritt, bei anderen erst nach einiger Zeit die genannten Reactionen im Zellsaft hervor. Diese kommen sowohl in sauren als in neutralen Zellsäften und zumeist ohne wesentliche Aenderung der Reaction zu Stande. In einem Falle, bei Coleus, wurde aber durch Herbeiführung alkalischer Reaction die Entfärbung durch Wasserstoffsuperoxyd beschleunigt.

Durch Ozon wurde keine Oxydation im Zellsaft lebender Zellen erzielt, weil dieser Körper auf das Protoplasma zu leicht tödtend einwirkt.

Im lebendigen Protoplasmakörper lässt sich durch Wasserstoffsuperoxyd eine direct sichtbare Reaction nach Speicherung von

Cyanin erreichen, denn dieses wird durch Wasserstoffsuperoxyd sogleich entfärbt. Ohne Zufuhr dieses Reagens findet im Dunkeln eine solche Reaction nicht statt und nur ganz allmählich entfärbt sich, wie auch bei Anwendung anderer gespeicherter und nicht oxydabler Farbstoffe, das Protoplasma durch Exosmose des Farbstoffs. Bei genügender Beleuchtung wird dagegen sowohl das in Wasser gelöste, als das im Protoplasma gespeicherte Cyanin durch den passiven Sauerstoff unter Oxydation entfärbt.

Die ungestörte Fortdauer der Protoplasmaströmung während der und nach den Oxydationen zeigt, dass diese ohne Schädigung des Lebens möglich sind. Dem entsprechend erweisen sich auch die so mit Wasserstoffsuperoxyd behandelten Pflanzen in normaler Weise wachsthumsfähig.

Die genannten Oxydationen werden in der fortlebenden Zelle nicht wieder rückgängig gemacht. Es findet also weder Reduction des erzielten Oxydationsproductes, noch Consum des erzeugten Farbstoffs statt. Ebenso unterbleibt in den ausgewachsenen Zellen die Neubildung des Farbstoffs oder Chromogens, die demgemäss für das Leben entbehrlich sind und sich bezüglich des Stoffwechsels wie Secrete verhalten.

Während des Lebens bleiben die postmortal sich färbenden Chromogene deshalb ungefärbt, weil mit dem Tode und der damit erzielten Mischung zuvor räumlich getrennter Stoffe Bedingungen geschaffen werden, welche den passiven Sauerstoff befähigen, oxydirende Wirkung gegen die Chromogene und gegen gewisse Reagentien geltend zu machen.

In der lebensthätigen Zelle kann freier passiver Sauerstoff bis in den Zellsaft im Ueberschuss vorhanden sein, so wie ja auch sogar Wasserstoffsuperoxyd existenzfähig ist, sobald Körper fehlen, resp. beseitigt sind, welche durch Wasserstoffsuperoxyd oxydirt werden.

Aus dem Unterbleiben der mit Wasserstoffsuperoxyd hervorrufbaren Reactionen folgt, dass weder Wasserstoffsuperoxyd, noch ein ähnlich oder stärker wirkender activirter Sauerstoff in der lebensthätigen Zelle zur Entstehung kommt. Dieses gilt ebenso für den Zellsaft als für das Protoplasma.

Auch wurde gezeigt, dass im Protoplasma (Analoges gilt auch für den Zellsaft) keine Stoffe vorhanden sind, welche, indem sie leichter oxydabel sind, die Wirkung von activirtem Sauerstoff auf Cyanin verhindern könnten.

Zu gleichen Schlüssen führten auch Versuche mit Penicillium glaucum. Dagegen muss es fraglich bleiben, ob gährthätige Organismen, die nicht in den Kreis unserer Untersuchungen gezogen wurden, auch hinsichtlich der Oxydationswirkung andere Eigenschaften entwickeln.

Auch bei dem genannten Schimmelpilz spielt sich, wie bei höheren Pflanzen, die Athmungsoxydation im Innern des lebendigen Organismus ab, denn eine von der lebendigen Zelle ausgehende extracellulare Oxydationswirkung kann auch bei lebhaft athmendem Penicillium ganz fehlen. Demgemäss ist extracellulare Oxydation, falls sie unter bestimmten Verhältnissen eintreten sollte, von dem Athmungsvorgang im Protoplasmakörper wohl zu unterscheiden.

Aus dem Intactbleiben des so leicht oxydablen Cyanins im Protoplasma folgt auch, dass dieses gegen imbibirte Körper nicht allgemein eine Wirkung geltend macht, die, etwa so wie genügend gesteigerte Erwärmung, einen oxydirenden Eingriff des passiven Sauerstoffs herbeiführt.

Da also in der lebenden Zelle weder activer Sauerstoff, noch irgend eine andere allgemeine Oxydationswirkung besteht, so kann auch die Verbrennung der verschiedenen Stoffe im Athmungsprocess nicht durch einfache Imbibition in den Protoplasmakörper erreicht werden.

Vielmehr muss mindestens eine specifische Wechselwirkung eine Rolle spielen und am wahrscheinlichsten ist, dass erst durch Einbeziehung des zu verathmenden Körpers in den Stoffumsatz die geeigneten Verbindungen oder Bedingungen geschaffen werden, welche den oxydirenden Eingriff des passiven Sauerstoffs herbeiführen. Von dem Ausmaass solcher Bedingungen ist aber die Intensität der Athmungsoxydation abhängig, die demgemäss durch Zufuhr eines Ueberschusses an Sauerstoff nicht gesteigert wird.

